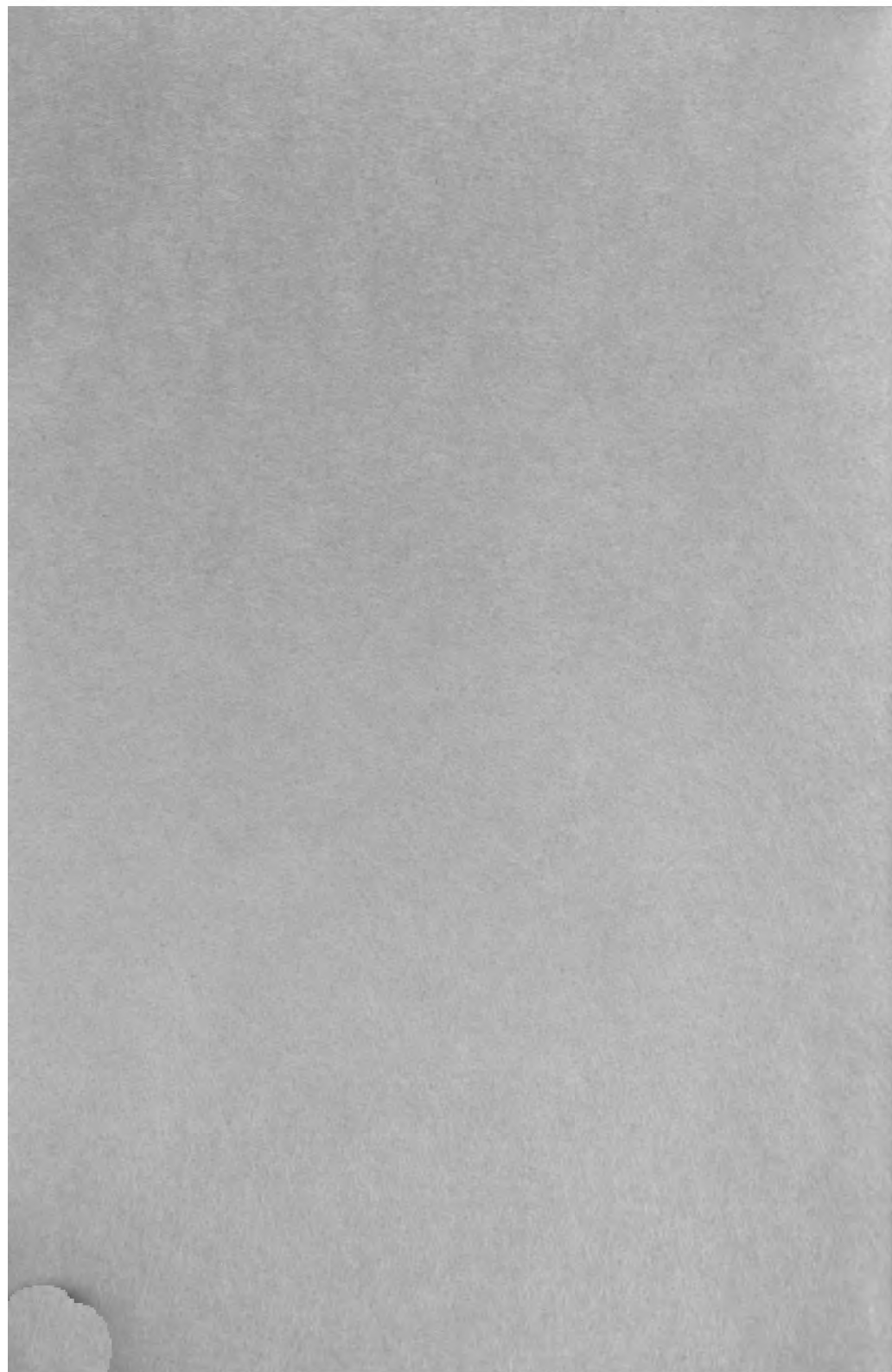




Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, H. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., E. Doerr-Basel, A. Darig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, M. Hahn-Berlin, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, K. Hess-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, M. Kochmann-Halle a. S., E. Krimberg-Kiga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, K. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Tübingen, L. Michaelis-Nagoya, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Mäurer-Prag, H. Murachhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Ostwald-Leipzig, J. E. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Paull-Wien, E. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Priganschnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Schenbert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitt-Breslau, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stohla-Prag, W. Straub-München, K. Suto-Kanasawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeler-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, E. Troidelenburg-Freiburg i. Br., O. Warburg-Berlin, A. v. Wassermann-Berlin, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau.

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertachtundvierzigster Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1924

Seb.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Yoshine, Seiitsu. Über den Stickstoffstoffwechsel bei der Avitaminose	1
Lorber, L. Über das Wesen der antipeptischen Wirkung des Bluteserums	49
v. Frey, Wolfgang. Beitrag zur Untersuchung der Serumeiweißkörper. (Methode der Serumgewinnung und Kritik der Rohrschen Albumin-Globulinbestimmung.)	53
Grassow, Fritz. Beiträge zur Kenntnis des Wollfettes	61
Chowdhury, J. K. Über Äther von Polysacchariden mit Oxysäuren	76
Nakayama, Kimio. Untersuchungen über den Einfluß der Salzfreiheit und der Lipoidfreiheit der Nahrung auf den Gaswechsel von Ratten	98
Jendrassik, L. Beiträge zu einer Pharmakologie der Konzentrations- änderungen. I. Mitteilung: Über Wirkungen von Kalium, Calcium und Magnesium am Darm	116
Lüers, H. und Ottensmeyer, F. Hefeeiweiß als Antigen	130
Risch, C. Eine titrimetrische Bestimmung der Wasserstoffionen- konzentration	147
Högler, Franz und Ueberrack, K. Über die Verteilung des Blutzuckers auf Körperchen und Plasma	150
Forssman, J. Zur Chemie der Wassermannreaktion und der Anti- körper. III.	160
Rubner, Max. Die Beziehung des Kolloidalzustandes der Gewebe für den Ablauf des Wachstums	187
— — Aus dem Leben des Kaltblüters. I. Teil: Die Fische	222
— — Aus dem Leben des Kaltblüters. II. Teil: Amphibien und Reptilien	268
Weis-Ostborn, W. und O. Ehrenthel. Zur Theorie der Meistagmin- reaktion (M. R.) beim Carcinom	308
Widmark, Erik M. P. und Nils V. Bildsten. Die Elimination des Methylalkohols und die Bedingungen für die Akkumulation desselben	325
Pringsheim, Hans und Arthur Beiser. Über ein Komplement der Amylasen und das Grenzextrakt. III	336
Harpuder, K. und H. Erbsen. Untersuchungen zur „Löslichkeit der Harnsäure“. I.	344
Harpuder, Karl. Untersuchungen zur „Löslichkeit der Harnsäure“. II	355
Sabalitschka, Th. Über die Ernährung von Pflanzen mit Aldehyden. V	370

MCL

12-28-61

IV

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Schlee, H. Die Konzentration des Silberions in Lösungen von kolloiden und komplexen Silberpräparaten mit besonderer Berücksichtigung ihrer medizinischen Anwendung	383
Olow, John. Studien über die Umsetzungsgeschwindigkeit des Äthylalkohols beim Kaninchen	433
Bach, A. und W. Engelhardt. Über die Spezifität der antiphenolatischen Immunsera	456
Engelhardt, W. Über die Wirkung der Antiphenolase in adsorbiertem Zustande	463
Iwanitzky-Wassilenko, E. und A. Bach. Über die Fermentzahlen des Blutes. II. Mitteilung: Schwankungen der Katalase- und Proteasezahlen während 24 Stunden bei Tieren und Menschen	469
Bach, A. und E. Cheraskowa. Über die Fermentzahlen des Blutes. III. Mitteilung: Die Katalasezahl des Blutes thyreoidektomierter Ziegen	474
Oparin, A. und A. Bach. Über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Fermentbildung in keimenden Pflanzensamen	476
Lawrow, Boris A. Stickstoffumsatz bei einseitiger Ernährung. I	482
Metzner, P. Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung. III. Mitteilung: Über die Bindung der wirksamen Farbstoffe in der Zelle	498
Neumann, Alfred. Die eosinophile Granulasubstanz des Blutes und ihre Darstellung. Untersuchungen über ihre Beschaffenheit und Eigenschaften. I. Mitteilung: Vorbemerkungen, Technik der Darstellung	524
Příbyl, E., V. Šuk und J. Zlámal. Studium der Eiweißkörperkoagulation in Tropfen. V. Mitteilung: Über den Einfluß der Gattung, des Geschlechts und des Alters von Tieren auf die Fällbarkeit des Blutserums	529
Adler, Oskar. Darstellung schwefelhaltiger Melanine	541
Mevius, Walter. Zur Chemonastie von <i>Drosera rotundifolia</i> . I	548
Eisler, M. und L. Portheim. Über insulinartige Stoffe aus Bohnen und deren Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel	566
Autorenverzeichnis	573

Über den Stickstoffstoffwechsel bei der Avitaminose.

Von

Seiitsu Yoshiue (Tokio).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 23. März 1924.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Die Stoffwechselstörungen bei der Avitaminose sind noch immer nicht restlos klargestellt. Einige Forscher, wie z. B. *T. Ogata* (6) legen auf die Verdauungsstörung das Hauptgewicht und sagen, daß die Stoffwechselstörungen im wesentlichen eine Folge der Verdauungsstörung seien. Also diese Frage muß vor allem entschieden werden, weil sie an den Angelpunkt des ganzen Avitaminoseproblems rührt. Auf der anderen Seite hat *M. Tsuji* (1) in dem hiesigen Laboratorium in einem bis zum Lebensende eines vitaminfrei gefütterten Hundes durchgeführten Stoffwechselversuche gezeigt, daß die Avitaminose bis auf das Terminalstadium verlaufen kann, ohne daß die N-Resorption gestört ist, das heißt also, daß die auf das Anfangskörpergewicht berechnete kalorisch suffiziente Nahrung immer quantitativ aufgefressen, und daß der Stickstoff nach Maßgabe des N-Gehaltes des Kotes auch quantitativ resorbiert wurde. Ein ganz strenger Beweis für die quantitative Resorption der gesamten Nahrung ist aber von *Tsuji* noch nicht erbracht worden, wenn auch das Verhalten der Trockenkotmengen in seinem Versuche für die ungestörte Resorption von Fett und Kohlehydraten sprach. Diese Frage habe ich in meiner vorliegenden Arbeit zunächst einmal untersucht und vor allen Dingen dabei definitiv entscheiden wollen, ob die avitaminöse Stoffwechselstörung im Prinzip etwas mit einer Resorptionsstörung zu tun hat oder nicht.

Der Grund, aus dem ein so großes Gewicht bei der Erforschung des Wesens der avitaminösen Stoffwechselstörung auf die genaue Kenntnis der Resorption gelegt werden muß, ist folgender:

Erfahrungsgemäß lokalisiert sich die avitaminöse Gewebsschädigung gar nicht so selten im Verdauungskanal. Ich erinnere an die

Atrophie der Darmschleimhaut, an skorbutische Störungen in derselben, ferner an anatomisch bisher noch nicht gefaßte Störungen, die zu Appetitlosigkeit und Nahrungsverweigerung führen. In allen diesen Fällen, in denen eine mangelhafte Nahrungsaufnahme oder eine Resorptionsstörung im Verlaufe der Krankheit auftritt, haben wir es im Stoffwechsel nicht mehr mit der reinen avitaminösen Störung zu tun, sondern mit einem Gemisch von Störungen, die durch Vitaminmangel und gewöhnliche Unterernährung erzeugt werden. In diesem Falle kann die Stoffwechseluntersuchung keine Resultate ergeben, die geeignet sind, das Prinzip der avitaminösen Störung aufzudecken.

Man muß sich gerade auf Grund derjenigen Versuche, über die ich im folgenden berichten werde, von dem Gedanken endlich einmal ganz frei machen, der sich in so vielerlei Variationen in der Literatur findet, daß nämlich die Störungen in der Nahrungsaufnahme und Nahrungsresorption *wesentliche* Störungen der Avitaminose seien. Sie sind nur häufig vorkommende und durch die zufällige Lokalisation der avitaminösen Gewebststörungen im Verdauungskanal hervorgerufene Erscheinungen. Ich muß geradezu die Forderung aufstellen, daß nur diejenigen Versuche etwas für das Vorhandensein spezifisch avitaminöser Störungen beweisen, bei denen gleichzeitig gezeigt wird, daß die Aufnahme einer gemischten, dem jeweiligen Versuchstiere adäquaten Nahrung mit genügendem Salzgehalt in kalorisch suffizienter Menge, auf das Anfangskörpergewicht berechnet, ungestört verläuft, und daß ihre Resorption quantitativ erfolgt.

Diese strengsten Anforderungen an die experimentelle Technik waren eigentlich bisher noch bei keinem Versuche über den Stoffwechsel bei der Avitaminose erfüllt. Denn auch im *Tsuji*schen Versuche wurde der Nachweis der quantitativen Fett- und Kohlehydratresorption verabsäumt.

Der N-Stoffwechsel bei der Avitaminose ist nun bisher auch niemals derart untersucht worden, daß an einem und demselben Tiere gleichzeitig die verschiedenen N-haltigen Komponenten im Harn analysiert wurden. Man begnügte sich mit der Aufstellung der gesamten N-Bilanz, *Tsuji* analysierte außerdem noch das Ammoniak.

Ich habe nun an demselben Tiere im Harn bestimmt den gesamten Stickstoff, den Harnstoff, die Aminosäuren, das Ammoniak, in einem Falle auch noch das Kreatinin, und außerdem untersuchte bei drei meiner Hunde mein Kollege *Adachi* (3) den Harnsäure- und Allantoingehalt des Harns, weil es über die Arbeitskraft und Zeit eines einzelnen hinausging, auch noch diese Analysen an dem gleichen Harn fortlaufend auszuführen.

Im ganzen machte ich meine Untersuchungen an neun Hunden. Ich begnüge mich, um den Umfang der Arbeit auf das notwendigste

Maß zu beschränken, mit der Mitteilung meiner Ergebnisse an sieben Hunden.

Für solche Versuche, wie ich sie hier mitteile, sind nur wenige Hunde geeignet, da bei vielen Hunden Erkrankungen des Verdauungskanals oder Nahrungsverweigerung so frühzeitig auftreten, daß es keinen Zweck hat, den Versuch fortzusetzen. Dadurch ist oft eine vielwöchige Arbeit umsonst gewesen. Nur dann, wenn einer akut auftretenden Verdauungsstörung der Tod unmittelbar nachfolgt, kann man die Versuche für den vorliegenden Zweck verwenden.

Da die Dauer der Avitaminose bei den Hunden sehr lang sein kann, so erstreckten sich meine Versuche an dem einzelnen Tiere auf 14 Tage bis 256 Tage. Ich habe also die Erfahrung gemacht, daß die Dauer der Avitaminose beim Hunde eine außerordentlich verschiedene sein kann. Ich habe ferner gesehen, daß junge Tiere von 3 Monaten bis ein Jahr sehr viel rascher und schwerer an der Avitaminose erkrankten und starben, als ältere Tiere. Das Alter meiner Versuchstiere lag zwischen 3 Monaten und etwa 10 Jahren. Ein Hund von 3 Monaten starb schon 14 Tage nach Beginn der avitaminösen Fütterung.

Man darf sich nun auch nicht bei der Diagnose der Avitaminose mit dem Hinweise begnügen, daß die Nahrung vitaminfrei war. Denn es könnte ja durch eine Art Symbiose mit den Darmbakterien Vitamin im Darne gebildet werden. Dann läge nur eine scheinbare Avitaminose vor. Aus diesem Grunde habe ich bei jedem Tiere, über das ich im folgenden Mitteilungen mache, entweder durch den Nachweis skorbutischer Blutungen oder den Nachweis von Degenerationen im Rückenmark und an den peripherischen Nerven noch ausdrücklich gezeigt, daß das betreffende Tier auch wirklich eine schwere Avitaminose hatte.

Manche Tiere starben an einem akuten Skorbut mit Magen-Darmblutungen; andere starben nach vorangegangenen schweren Lähmungen und Ataxien, bei anderen bestand eine Korneatrübung mit Geschwürsbildung (avitaminöse Keratomalazie), oder auch eine trockene, faltenreiche Bindehaut (avitaminöse Xerosis).

Ich wende mich nunmehr zunächst zur Besprechung der einzelnen Versuche.

Bei allen Versuchen wurde in der Vorperiode, soweit eine solche überhaupt angeordnet wurde, wie in der Hauptperiode dieselbe gemischte Nahrung gegeben, nur war sie in der Vorperiode vitaminhaltig, in der Hauptperiode aber vitaminfrei. Die Vitamine wurden in der Form von frischer Butter und frischem Citronensaft oder frischen Tomaten gegeben. In der Hauptperiode wurde die Butter durch ausgelassenes Schweineschmalz oder Margarine ersetzt oder im Autoklaven erhitzt, der Citronensaft weggelassen. Die Grundnahrung bestand, abgesehen von *Osbornes* Salzgemisch, aus getrocknetem, fein pulverisiertem Pferdefleischpulver oder Weizeneiweiß

(von der chemischen Fabrik Dr. Klopfer, Dresden-Leubnitz, bezogen), ferner poliertem, gewaschenem Reis und Butter bzw. Schweineschmalz oder Margarine. Das Futter der Hauptperiode wurde durchgängig 3 Stunden bei 120 bis 125° C, in einem Falle auch bei 130 bis 135° C sogar 6 Stunden, ja einmal bei 145 bis 150° C 3 Stunden im Autoklaven behandelt. Das ganze Futter wurde mit Wasser zu einem Brei gekocht; in der Vorperiode wurde die Butter und das übrige Vitamin erst nach dem Erkalten des Breies diesem zugesetzt; der Citronensaft wurde durch die Schlundsonde gegeben. Ich habe jede Futterzusammenstellung auf Schmackhaftigkeit selbst gekostet. Bei zwei Hunden habe ich während der ganzen Versuchsdauer den Brei mit der Schlundsonde gegeben, um absolut sicher zu sein, daß nichts von dem Futter verloren ging. Sobald der Kot, der bei der gewählten Fütterung immer ganz fest sein mußte, Neigung zeigte, etwas weicher zu werden, habe ich auf den Bauch der Tiere wärmende Tücher fest angebunden und gesehen, daß dann bald der Kot wieder die normale feste Beschaffenheit hatte. Unter dem Wort „Bauchschutz“ findet es sich in den Protokollen vermerkt, wenn ein Hund so behandelt wurde.

Erster Versuch.

Hund, etwa 1½ Jahre alt, männlich, Anfangskörpergewicht 6820 g. Vorperiode 20 Tage, avitaminöse Periode 25 Tage. Klinischer Verlauf der

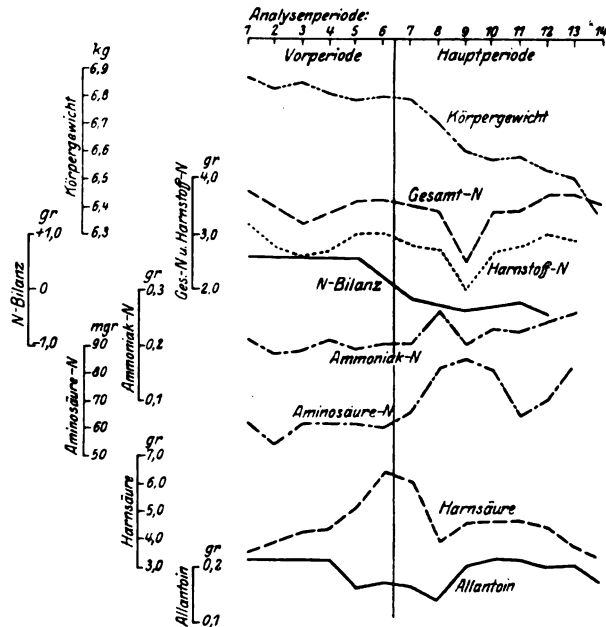


Abb. 1. Zu Versuch 1.

Avitaminose: Körpergewichtsabnahme; am 40. Versuchstage erkrankte der Hund an Erbrechen und starb am 46. Tage. Bei der Sektion fand sich ein hochgradiger Darmkatarrh mit skorbutischen Blutungen im Magen und Darm.

Dieser Hund ist der erste Hund in der Arbeit von *Adachi* (3).

Nahrung: 45 g Reis, 35 g Pferdefleisch, 10 g Butter, 2 g Salzgemisch (Citronensaft 40 g), etwa 500 ccm Aqua dest.

N-Gehalt der Nahrung mit Citronensaft . . 4,9875 g

N-Gehalt der Nahrung ohne Citronensaft . . 4,9395 g

Kaloriengehalt der Nahrung etwa 404 Cal

1 g Reis 12,7 mg N, 1 g Pferdefleisch 124,8 mg N, 1 g Citronensaft 1,2 mg N.

Die Harnsäure- und Allantoinwerte zu dieser Tabelle finden sich in der Tabelle I der Arbeit von *Adachi*.

Aus der Tabelle I ergibt sich, daß der Hund während der Vorperiode (1. bis 18. Tag) eine leicht positive N-Bilanz bei ziemlich konstantem Körpergewicht hatte. Als nun mit Beginn der vitaminfreien Ernährung am 19. Tage das Futter im Autoklaven erhitzt wurde, wurde eine Temperatur von 145 bis 150° C bei dreistündiger Dauer angewandt, so daß alle Nahrungsbestandteile stark gebräunt waren. Die Folge war, daß bei dieser Fütterung eine N-Resorptionsstörung im Darm sofort auftrat, wie sich aus dem erhöhten N-Gehalt des Kotes in dieser Zeit (19. bis 24. Tag) ergibt. Zusehends wurde die N-Bilanz plötzlich stark negativ, der Ammoniak- und Aminosäuregehalt des Harns nahmen zu, der Harnstoffgehalt ging zurück. Diese Störungen verstärkten sich noch in der Periode vom 25. bis 30. Tage, obschon ich vom 28. Tage an das Futter im Autoklaven bei 125° C erhitze, so daß eine Bräunung vermieden wurde. Vom 31. bis 36. Versuchstage war darauf die Resorption wieder besser, die ganzen Störungen hatten ungefähr die Intensität, die sie vom 19. bis 24. Tage gehabt hatten. Da in der Periode vom 37. Tage an gelegentlich Erbrechen auftrat, so konnte der genaue Stoffwechselversuch nicht zu Ende geführt werden. Man ersieht aus der Tabelle nur so viel, daß vom 37. Tage an die N-Ausscheidung ungefähr auf derselben Höhe wie in der vorausgegangenen Periode blieb, daß aber die Ammoniak- und Aminosäureausscheidung absolut und prozentig abnahm.

Die Harnsäure- und Allantoinausscheidung zeigten etwa bis zum 21. Tage ein gegensätzliches Verhalten, indem mit einer vermehrten Harnsäureausscheidung eine verminderte Allantoinausscheidung ungefähr einherging. Dann aber liefen die Kurven für die Harnsäure- und Allantoinausscheidung parallel. Nun zeigte der Hund bis zum Ende der Vorperiode am 18. Tage eine sich progressiv steigende Harnsäureausscheidung, allerdings bei fallendem Allantoingehalt. In der ersten Woche der vitaminfreien Ernährung sanken beide, die Harnsäure- und Allantoinausscheidung, stiegen dann wieder etwas an, um später wieder zu fallen. Im allgemeinen fällt die Verminderung der Harnsäure- und Allantoinausscheidung zusammen mit der schweren Resorptionsstörung. Mit der Besserung der Resorption geht die Ausscheidung wieder etwas in die Höhe, um mit der Verschlechterung in der Nahrungsaufnahme in der letzten Periode vom 37. Tage an wieder zu sinken.

Aus diesen Beobachtungen geht jedenfalls so viel hervor, daß eine Einschränkung in der N-Resorption, also ein leichter N-Hunger, eher zu einer Verminderung der Harnsäure- und Allantoinausscheidung führt, mit Sicherheit aber keine Steigerung derselben bewirkt. Die Avitaminose als solche scheint bei diesem Hunde überhaupt keine Störung in der Harnsäure- und Allantoinausscheidung gemacht zu haben.

Tabelle

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harmmenge in ccm	Gesamt-N täglich in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
Bemerkungen							
16. II. 1922							
1	6820	620	4,6030	3,8466			
2	6900	470	2,6551				
3	6900	450	4,2817				
4	6850	470	3,5402				
5	6850	495	3,6313	3,5558			
6	6800	550	3,4956				
7	6820	640	3,5421	3,7011	0,6440	4,9875	+ 0,6423
8	6870	550	3,3028	3,2310			
9	6840	450	2,8481				
10	6840	510	3,0283				
11	6740	660	4,5122	3,4556			
12	6870	435	2,7262				
13	6800	730	3,9315	3,3266	0,9510	4,9395	+ 0,6619
14	6770	485	3,6315	3,6717			
15	6800	600	3,4519				
16	6800	510	3,9697				
17	6800	530	2,9558	3,6775			
18	6800	625	4,1072				
19	6800	520	3,5725	3,6798	0,6282	4,9395	+ 0,6315 Beginn v. Avitaminose
20	6720	550	3,6734	3,5431			
21	6750	380	3,3834				
22	6750	500	3,8726				
23	6750	420	3,3666	3,4961			
24	6600	540	3,2491				
25	6600	660	2,7044	3,5196	1,6518	4,9395	— 0,2319 Speise stark erhitzt
26	6600	520	2,5711	2,5933			
27	6600	460	2,5044				
28	6600	450	3,3892				
29	6550	550	3,5635	3,4768			
30	6550	470	3,4777				
31	6600	540	3,3343	3,0350	2,2518	4,9395	— 0,3473
32	6600	590	3,8011	3,4867			
33	6550	480	3,3245				
34	6550	510	2,1340				
35	6520	500	5,3723	3,7238			
36	6520	450	2,6652				
37	6500	420	3,8180	3,6051	1,6340	4,9395	— 0,2995
38	6500	400	3,7294	3,7171			
39	6520	410	3,6039				
40	6440			3,5437			
41	6420	420	4,0471				
42	6320	390	4,2541				
43	6300	110	2,3299				
44	6150	110					
45							
46							
							Gestorben

I.

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g u. Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g u. Proz. des Gesamt-N	Gesamt- Amino-N in einer Analysen- periode in mg	Amino-N pro Tag durch- schnittlich in mg	Harnsäure pro Tag durch- schnittlich in mg	Allantoin pro Tag durch- schnittlich in g
0,2509	0,2198 5,7140	3,9504	3,2056 83,3360	187,711	62,57	3,56	0,2182
0,1575		2,0185					
0,2510		3,6480					
0,1852	0,1849 5,2009	2,8568	2,8887 81,1480	164,340	54,78	3,95	0,2198
0,1970		2,9956					
0,1726		2,8139					
0,2083	0,1963 6,0775	2,8761	2,6429 81,7982	188,15	62,71	4,21	0,2191
0,2014		2,7115					
0,1794		2,3411					
0,1986	0,2197 6,3578	2,4529	2,7969 80,9409	185,29	61,76	4,36	0,2162
0,2871		3,7135					
0,1735		2,2245					
0,2083	0,1981 5,3944	3,2277	3,0168 82,1643	183,66	61,22	5,15	0,1665
0,1961		2,9887					
0,1898		2,8340					
0,2143	0,2019 5,4891	3,2630	3,0238 82,2228	180,69	60,23	6,46	0,1766
0,1655		2,4385					
0,2258		3,3699					
0,2179	0,2031 5,7237	2,8994	2,8812 81,3204	198,20	66,06	6,06	0,1679
0,2020		2,9864					
0,1895		2,7580					
0,3057	0,2692 7,7009	3,0724	2,7782 79,4686	246,16	82,05	3,95	0,1404
0,2539		2,6370					
0,2481		2,6254					
0,2055	0,2012 7,7609	2,0959	2,0241 78,0514	255,24	85,24	4,61	0,2003
0,2005		2,0131					
0,1978		1,9634					
0,2440	0,2351 6,7619	2,6944	2,7908 80,2701	243,62	81,21	4,68	0,2101
0,2423		2,8543					
0,2190		2,8238					
0,2033	0,2221 6,3699	2,7407	2,8504 81,8462	193,15	64,38 ?	4,61	0,2126
0,2470		3,0978					
0,2160		2,7227					
0,1367	0,2463 6,6140	1,6838	3,0464 81,8083	212,04	70,68	4,42	0,2077
0,3513		4,4567					
0,2510		2,9988					
0,2723	0,2691 7,2385	3,0380	2,9599 79,6303	252,34	84,11	3,63	0,0338
0,2765		2,9756					
0,2585		2,8663					
						3,23	0,1774

Tabelle

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harmmenge in ccm	Gesamt-N täglich in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
28. II. 1922							
1	6900	350	3,1532	4,2169	0,3562	5,0335	+ 0,4604
2	6900	380	3,7378				
3	6880	310	4,1127				
4	7200						
5	7200	325	5,4552				
6	7050	410	5,7043				
7	7000	420	4,6073				
8	6850	540	5,9010	4,3332	0,4647	4,9975	+ 0,1996
9	6900	270	4,2327				
10	6800	280	3,6095				
11	6900	250	5,4853				
12	6950	200	2,3312				
13	6920	320	4,5917				
14	6950	420	6,1746				
15	6800	380	3,9080	4,4947	0,5663	4,9975	— 0,0635
16	6750	330	4,6041				
17	6750	290	4,4047				
18	6750	270	4,5631				
19	6700	350	4,5616				
20	6700	230	4,2350				
21	6700	360	4,4891				
22	6620	350	4,6049	4,5082	0,5971	4,9975	— 0,1078
23	6650	230	3,7388				
24	6650	210	4,5931				
25	6600	400	4,6292				
26	6630	310	4,7973				
27	6570	350	4,4476				
28	6550	430	4,8435				
29	6600	400	3,0480	4,4665			
30	6550	450	5,9185				
31	6520	350	3,6566				
32	6500						
33	6300	280	2,2595				
34	6200	350	1,7442				
35	6250	230	4,5994				
36	6230	170	5,6173	4,4013	0,3413	4,9975	+ 0,2549
37	6250	140	3,8992				
38	6320	160	3,8011				
39	6470	190	3,9522				
40	6450	300	6,0265				
41	6450	180	3,3702				
42	6450	240	4,8967				
43	6450	280	4,3016	4,4013	0,3413	4,9975	+ 0,2549
44	6450	340	4,4495				
45	6450	290	3,7524				
46	6420	300	4,2567				
47	6400	340	4,5409				

II.

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich, Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich, Proz. des Gesamt-N	Gesamt- Amino-N in einer Analysen- periode in mg	Amino-N durchschn. Tagesmenge i. Analysen- periode in mg	Amino-N pro Tage in einer Periode in mg	Harnsäure u. Allantoin durch- schnittlich in einer Periode in mg u. g		
				Bemerkungen					
0,2095		2,0963							
0,2650	}	3,0779	}	}	}	}			
0,2412		3,3315							
0,2572		4,6043						3,4641	
0,2681		4,7901						82,1480	
0,3047		3,7370							
0,3496	}	4,8693	}	}	}	}			
0,2325		3,3024							
0,1916		2,9387						227,62	75,87
0,2789		4,8825						}	}
0,1639		1,8941							
0,2541	5,6625	3,8836	83,8918	297,20	74,30				
0,3402	4,8024	}	}						
0,2434	3,2096								
0,2545	3,7841			}	}				
0,2465	3,6762					223,76	74,58		
0,2693	3,8083					}	}		
0,2689	3,8331	3,7558							
0,2454	5,6444	3,5875	83,5606					228,92	76,31
0,2465	3,7268	}	}						
0,2447	3,8750								
0,2630	3,0486			237,41	79,13				
0,2511	3,7422			}	}				
0,2853	0,2698					3,8220	3,7359		
0,2822	5,9846	4,0351	82,8712			259,95	86,65		
0,2785	3,7575	}	}						
0,2650	4,0104								
0,1911	2,5979			}	}				
0,2883	5,0513								
						362,94	90,73	90,73	
						Krank, Erbrechen und Nahrungsverweigerung. Anfangs Gabe von nat. bica., später von acid. hydrochl. dil.			
						Am 37. u. 38. Tage Citronensaftgabe			
0,1647	}	3,2196	}	}	}	}			
0,1786		3,2010						3,5351	
0,2258		3,3181						79,1469	
0,3194		5,0757							
0,1702		2,8608							
0,2762	}	4,0298	}	}	}	}			
0,2235		3,6734							
0,2291		0,2402						3,7883	3,6762
0,2116		5,4574						3,1170	83,5253
0,2521		3,5406							
0,2488		3,9084							

Tabelle 11

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harnmenge in ccm	Gesamt-N täglich in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
48	6400	250	4,6109	3,9979			
49	6440	210	3,8376				
50	6440	250	4,4299				
51	6430	260	4,0172				
52	6440	310	3,8236				
53	6440	240	4,0685	2,9965			
54	6420	150	2,4783				
55	6400						
56	6400	230	4,1917				
57	6400	220	3,9017				
58	6300						
59	6150	160	2,1883				
60	6100	270	1,8362				
61	5800	410	3,3832				
62	5600	150					
63	5400	260					
64	5400	270					

Der Quotient Harnstoff : Ammoniak lautete in den verschiedenen Perioden folgendermaßen:

13. bis 18. Tag	15,10
19. „ 24. „	11,98
25. „ 30. „	11,03
31. „ 36. „	12,58

Bei diesem Hunde bestand also während der ganzen Zeit der avitaminösen Fütterung eine leichte Acidosis, die ganz in Abhängigkeit von der N-Resorption im Darne verlief und sich darum auch mit der Besserung dieser vom 31. bis 36. Tage besserte. Dieser Hund ist ein Beispiel für einen Fall von Avitaminose, bei dem die Avitaminose dauernd durch N-Hunger infolge gestörter N-Resorption kompliziert ist. Alle Störungen im N-Stoffwechsel erklären sich aus der Resorptionsstörung.

Zweiter Versuch.

Hund, etwa 2 Jahre alt, männlich, Anfangskörpergewicht 6900 g. Vorperiode 14 Tage. Avitaminöse Periode 50 Tage. Klinischer Verlauf der Avitaminose: Allmähliche Körpergewichtsabnahme, am 30. Versuchstage Erbrechen, dann Besserung; in Intervallen am 50., 51., 54., 56., 60. Versuchstage abermals Erbrechen. Gelegentliche Citronensaftzulagen in dieser Zeit besserten den Zustand nicht nennenswert. In den letzten Tagen traten Paresen an den Hinterbeinen auf. Am 64. Tage starb der Hund. Im Magen-Darmkanal fanden sich schwere skorbatische Blutungen.

Dieser Hund ist der zweite Hund in der Arbeit von Adachi (3).

Für meine Zwecke ist bei diesem Hunde nur die Zeit vom 1. bis 29. Versuchstage zu gebrauchen, in der der Hund keinerlei Störungen von seiten des Digestionstraktus erkennen ließ.

(Fortsetzung.)

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durchschnittlich, Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durchschnittlich, Proz. des Gesamt-N	Gesamt- Amino-N in einer Analysen- periode in mg	Amino-N durchschn. Tagesmenge i. Analysen- periode in mg	Amino-N pro Tage in einer Periode in mg	Harnsäure u. Allantoin durchschnittlich in einer Periode in mg u. g
Bemerkungen							
0,2667	0,2633 6,5859	3,5345	3,3491 83,7715	Krank, Erbrechen u. Nahrungsver- weigerung, Citro- nensaft u. Natr. bica., später Acid. hydrochl. dil.			4,86 0,1657
0,2331		3,2243					
0,2953		3,4315					
0,2974		3,3478					
0,2248		3,1572					
0,2626		3,3990					4,86 0,1434
				Gestorben			5,18 0,1533

Bei diesem Hunde wurde ferner die Nahrung in der Hauptperiode nicht im Autoklaven erhitzt. Der stürmische Verlauf der Avitaminose zeigt, daß das gegebene Futter praktisch vitaminfrei war; denn das Pferdefleisch war vor seiner Verwendung erst etwa 1 Jahr in getrocknetem Zustande aufbewahrt und dann nach der Pulverisierung noch einmal etwa 12 Stunden in Wasser gekocht worden. Der polierte Reis war sorgfältig gewaschen worden. Das verwandte Weizeneiweiß war nach anderen Versuchen, die wir an Ratten angestellt hatten, als vitaminfrei befunden worden. Der Hund bekam vielleicht etwas A-Vitamin in den 20 g Butter während der Hauptperiode, denn die Butter war in der Hauptperiode nur 5 Stunden auf offener Flamme gekocht worden. Citronensaft erhielt er nur in der Vorperiode.

Nahrung: 30 g Reis, 20 g Pferdefleisch, 15 g Weizeneiweiß, 20 g Butter, 10 g Zucker, 2,5 g Salzgemisch (30 g Citronensaft), etwa 500 ccm Aqua dest.

N-Gehalt der Nahrung mit Citronensaft . . . 5,0335 g

N-Gehalt der Nahrung ohne Citronensaft . . . 4,9975 g

Kaloriengehalt der Nahrung etwa 439 Cal

1 g Reis 12,7 mg N, 1 g Pferdefleisch 124,7 mg N, 1 g Weizeneiweiß 141,5 mg N, 1 g Citronensaft 1,2 mg N.

Aus der Tabelle II ergibt sich, daß der Hund während der Vorperiode (1. bis 14. Tag) eine positive N-Bilanz (+ 0,1996 g) bei ungefähr konstantem Körpergewicht hatte. Mit dem Einsetzen der vitaminfreien Ernährung wurde sofort die N-Bilanz deutlich negativ, und ihre Negativität nahm bis zum 27. Tage, also bis zum Ende der zweiten Woche der Avitaminose, zu bei allmählichem Sinken des Körpergewichtes; wohlgermerkt trat das alles ein, obchon das Tier vielleicht Spuren von Vitamin A in der Butter erhielt. Der N-Gehalt des täglichen Kotes stieg in der ersten Woche der Avitaminose

um 0,1 g N an und erhob sich in der zweiten Woche der Krankheit noch um weitere 0,03 g N. Dieser Anstieg des Kotstickstoffs erklärt bei dem gleichbleibenden Harn-N das Zunehmen der negativen N-Bilanz in den beiden ersten Wochen der Avitaminose. Dementsprechend vermehrte sich in der zweiten Woche das Ammoniak ein klein wenig, die Aminosäuren

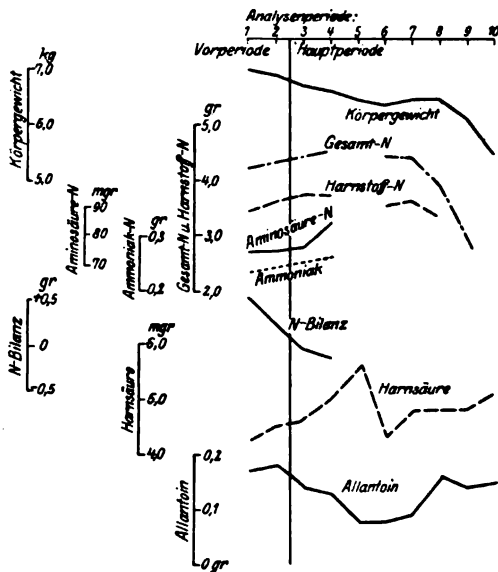


Abb. 2. Zu Versuch 2.

nahmen etwas mehr zu. Der Harnstoffgehalt des Urins war in beiden Wochen der Avitaminose derselbe, aber eine Spur erhöht gegenüber der Normalperiode. Wir haben es bei allen diesen Erscheinungen mit den Vorboten zu tun, die die Magen-Darmstörung ankündigen, die dann in der dritten Woche der avitaminösen Fütterung sich in Erbrechen zeigte.

Der Quotient Harnstoff: Ammoniak lautete in den verschiedenen Perioden folgendermaßen:

10. bis 15. Tag	14,75
23. „ 28. „	13,84
42. „ 47. „	15,30

Es bestand also bei diesem Hunde zur Zeit der schlechten Resorption eine Acidosis, die mit der Besserung der Resorption vom 42. Tage an sofort verschwand.

In der Harnsäure- und Allantoinausscheidung war an diesem Hunde bis zum 28. Tage nichts Besonderes zu bemerken. Da aber bei diesem Hunde auch bis zur prä-mortalen Periode die Harnsäure- und Allantoinausscheidung trotz der vom 29. Tage an stärker auftretenden Magen-Darmstörung und der damit einhergehenden stärkeren Resorptionsstörung ungefähr normal blieb, so folgt daraus, daß die verhältnismäßig geringfügige Unterernährung, die in einem solchen Falle von Avitaminose wegen der Verdauungsstörung auftritt, zu einer Vermehrung der Harnsäure- und Allantoinausscheidung nicht führt.

Dieser zweite Versuch ist ein Beispiel für eine sehr frühzeitig auftretende Lokalisation der avitaminösen Störung in der Magen-Darmschleimhaut. Er zeigt, daß Resorptionsstörungen und die Folgen dieser einfachen Unterernährung am Stoffwechsel (negative N-Bilanz, Vermehrung von Ammoniak- und Aminosäuren im Harn) schon zu einer Zeit auftreten, in der klinische Erscheinungen einer Magen-Darmstörung noch nicht bestehen.

Dritter Versuch.

Hund, etwa 10 Jahre alt, männlich, Anfangskörpergewicht ist 7200 g. Vorperiode 11 Tage, darunter die sieben letzten Tage bei vollständig durchgeführten Analysen. Avitaminöse Periode 245 Tage (12. bis 256. Versuchstag). In dieser Zeit wurden vom 126. bis 129. Versuchstage, ferner vom 143. bis 238. Versuchstage keine Analysen gemacht, aber es wurde das Tier in dieser Zeit bei der avitaminösen Fütterung unverändert gehalten und darauf geachtet, daß es die Nahrung immer quantitativ auffraß. Ferner zeigte die Versuchsanordnung in der avitaminösen Periode noch folgende Besonderheiten.

Als am 113. Versuchstage die N-Bilanz allmählich negativ geworden war, wollte ich sehen, ob durch eine vermehrte N-Zufuhr zur Nahrung die N-Bilanz beeinflußt werden könnte. Darum vermehrte ich das Pferdefleisch und das Weizeneiweiß in der Nahrung beträchtlicher. Das geschah vom 113. bis 121. Versuchstage. Nunmehr verweigerte aber das Tier diese Nahrung. Darum ließ ich den Hund zunächst einmal 5 Tage hungern, vom 122. bis 126. Tage. Dann gab ich dem Hunde bei etwas geringerer N-Menge, wie in der Zeit vom 113. bis 121. Tage, an Stelle des Pferdefleisches südamerikanisches Büchsenrindfleisch in der geringeren Menge und ließ 5 g Fett weg. Die Büchsenfleischperiode dauerte also vom 127. bis 143. Versuchstage. Vom 144. bis 256. Versuchstage setzte ich das Tier wieder auf die Pferdefleisch-Weizeneiweißkost, die es vom 113. bis 121. Tage gehabt hatte, nur bestand der Unterschied, daß 7 g Pferdefleisch und 5 g Fett weniger gegeben wurden.

1. bis 11. Tag.

Nahrung: 35 g Reis (1 g 12,8 mg N), 15 g Weizeneiweiß (1 g 141,5 mg N), 20 g Pferdefleisch (1 g 124,7 mg N), 25 g Butter, 10 g Zucker, 3 g Salzgemisch, 30 g Citronensaft (1 g 1,2 mg N), etwa 550 ccm Aqua dest. Gesamt-N = 5,1005 g. Kaloriengehalt etwa 565 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 78 Cal. 1. bis 11. Tag: Vitamingehalt Butter Faktor A. 1. bis 11. Tag: Citronensaft Faktor B, C und D.

12. bis 113. Tag.

Nahrung: 35 g Reis (1 g 12,8 mg N), 15 g Weizeneiweiß (1 g 141,5 mg N), 21 g Pferdefleisch (1 g 118,7 mg N), 25 g Butter, 10 g Zucker, 3 g Salzgemisch, etwa 550 ccm Aqua dest. Gesamt-N = 5,0645 g. Kaloriengehalt etwa 544 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 75 Cal am 12. Tage. Vitamingehalt: 38. bis 61. Tag geringe Vitaminmengen im Pferdefleisch, das in dieser Zeit nur hypovitaminös gemacht worden war.

113. bis 121. Tag.

Nahrung: 35 g Reis (1 g 12,8 mg N), 25 g Weizeneiweiß (1 g 141,5 mg N), 32 g Pferdefleisch (1 g 118,7 mg N), 20 g Butter, 3 g Salzgemisch, etwa 550 ccm Aqua dest. Gesamt-N = 7,7265 g. Kaloriengehalt etwa 534 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 80 Cal am 113. Tage. Vitamingehalt: 113. bis 121. Tag = 0.

122. bis 126. Tag.

Nahrung Wasser. Gesamt-N = 0. Kaloriengehalt = 0, pro 1 kg Körpergewicht Kalorien = 0.

127. bis 143. Tag.

Nahrung: 35 g Reis (1 g 12,8 mg N), 25 g Weizenkeim (1 g 141,5 mg N), 20 g Büchsenfleisch (1 g 103,1 mg N), 15 g Schweineschmalz, 3 g Salzgemisch, etwa 550 ccm Aqua dest. Gesamt-N = 6,0475 g. Kaloriengehalt etwa 451 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 75 Cal am 127. Tage. Vitamingehalt: 127. bis 143. Tag geringe Vitaminmengen im Büchsenfleisch.

144. bis 256. Tag.

Nahrung: 35 g Reis (1 g 12,8 mg N), 25 g Weizenkeim (1 g 141,5 mg N), 25 g Pferdefleisch (1 g 122,6 mg N), 15 g Schweineschmalz, 3 g Salzgemisch, etwa 550 ccm Aqua dest. Gesamt-N = 7,050 g. Kaloriengehalt etwa 467 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 78 Cal am 144. Tage. Vitamingehalt: 144. bis 256. Tag = 0.

Dieser dritte Versuch hatte noch die Besonderheit, daß in die lange Hauptperiode Perioden eingeschaltet waren, in denen das Tier wahrscheinlich gleichzeitig eine geringe Menge der im Fleisch enthaltenen Vitamine erhielt. Um das Fleisch ganz vitaminfrei zu machen, muß man es entweder tagelang auskochen oder im Autoklaven sehr stark erhitzen. Am sichersten geht man, wenn man das durch die Fleischmaschine gegebene Fleisch unter immer wiederholtem Abgießen und jedesmaliger Erneuerung des Wassers eine Woche lang täglich 5 Stunden kocht und dann das getrocknete Fleisch noch 3 Stunden im Autoklaven bei etwa 120 bis 130° C erhitzt. Solches Fleisch habe ich vom 144. bis 256. Versuchstage gegeben. Vom 1. bis zum 37. Tage bekam der Hund Pferdefleisch, das etwa 12 Stunden gekocht und dann im trockenen Zustande etwa 1 Jahr aufbewahrt worden war. Auch dieses Fleisch war vitaminfrei. Das Fleisch, das vom 38. bis 61. Tage gegeben wurde, war frisches Pferdefleisch, das nur 12 Stunden gekocht worden war. Es enthielt offenbar noch geringe Vitaminmengen. Als ich aber eben dieses Fleisch noch 6 Stunden im Autoklaven bei 130 bis 135° C behandelte, war es vitaminfrei. Dieses Fleisch erhielt der Hund vom 62. bis 121. Versuchstage. Das amerikanische Büchsenfleisch enthielt offenbar noch gewisse Vitaminmengen.

Der klinische Verlauf der Avitaminose bei diesem Hunde war folgender. Das Körpergewicht war in der Vorperiode vom 1. bis 11. Tage konstant. Vom 12. bis 113. Tage sank es allmählich; nur hatte es sich in der Zeit vom 38. bis 61. Tage vorübergehend erholt, weil hier der Hund offenbar mit dem Fleisch Vitamine bekam. Vom 113. bis 121. Tage sank es kontinuierlich. Vom 122. bis 126. Tage, also in der Zeit, in der ich den Hund hungern ließ, erfolgte ein Sturz der Gewichtskurve. Als nun vom 127. bis 143. Tage der Hund mit dem Büchsenfleisch offenbar wieder Vitamine erhielt, stieg das Körpergewicht wieder an und erreichte den ungefähren Stand vor der Hungerperiode. Vom 144. bis 256. Tage, also in der Zeit, in der der Hund absolut vitaminfrei ernährt wurde, sank das Körpergewicht ganz langsam von etwa 6300 auf 5500 g.

Der Hund bekam ferner in den letzten Wochen eine langsam zunehmende Keratomalazie. Paresen zeigte er nur vorübergehend. Er wurde am 256. Versuchstage getötet. Makroskopisch fanden sich keine Organveränderungen, bis auf eine Wulstung und Rötung der Duodenalschleimhaut.

Bemerkenswert ist bei diesem Versuche, daß die Zulage von Fleisch, das nach seiner technischen Vorbereitung nicht absolut vitaminfrei zu sein brauchte, sondern noch, wenn auch in geringer Menge die Faktoren B und C enthalten konnte, den Gewichtsabfall aufhielt oder sogar das Gewicht steigerte.

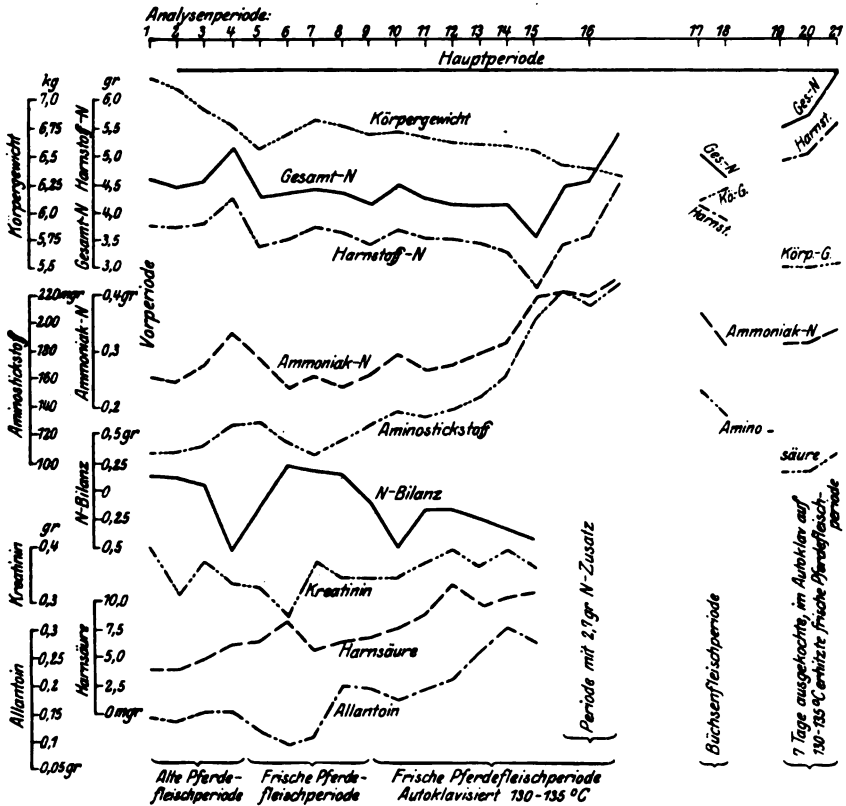


Abb. 3. Zu Versuch 3.

Aus der Tabelle III ist folgendes über den N-Stoffwechsel dieses Tieres zu ersehen.

In der Vorperiode (1. bis 11. Tag) befand sich das Tier in einer positiven N-Bilanz von + 0,1455. Der Kot-N betrug pro Tag 0,38 g; die N-Resorption war also gut. Die Verteilung der übrigen N-haltigen Harnbestandteile ist aus der Tabelle ersichtlich. Der Quotient Harnstoff : Ammoniak war 14,9.

In der Periode vom 12. bis 37. Tage wird die N-Bilanz allmählich negativ bei gleichzeitig sinkendem Körpergewicht. Zunächst ist die tägliche Kot-N-Menge um 0,16 g gesteigert, die N-Resorption also verschlechtert, dann aber bessert sich die Resorption trotz fortschreitender Avitaminose; am 33. Tage enthält der Kot nur noch 0,05 g N mehr, als in der Vorperiode. Der Ammoniakgehalt des Harns steigt ein wenig an, ebenso die Aminosäurequote, wie endlich auch der Harnstoff. Gleiches gilt auch von der Harn-

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harnmenge in ccm	Gesamt-N täglich im Harn in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g Harnsäure () in mg Allantoin [] in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N pro Tag in g	N-Bilanz in g
Bemerkungen							
24. I. 1923							
1	7200						
2	7300						
3	7400	250	5,9174				
4		270	3,8667				
5	7200	200	4,3348	4,5719	0,3831	5,1005	+ 0,1455
6	7400			(3,81)			
7	7220	410	9,9522	[0,141]			
8	7200	440	5,5443				
9	7250	170	2,7847				
10	7050	470	6,9113				
11	7200	320	3,1812				
12	7220	260	3,3152				
13	7150	230	3,4918				
14	7050	300	3,1422	4,4141	0,5451	5,0645	+ 0,1053
15	7170	280	3,4674	(3,93)			
16	7100	530	5,3820	[0,135]			
17	7100	350	4,5955				
18	6950	510	7,5038				
19							
20	6900	420	6,8235				
21	6850	390	5,3146				
22	7020	170	2,0619	4,5268	0,4751	5,0645	+ 0,0476
23	6920	470	6,0622	(4,66)			
24	6900	430	5,1904	[0,152]			
25	6920	340	5,2541				
26	6750	420	5,5076				
27	6850	320	4,0460				
28	6840	380	5,0099				
29	6700	350	5,5914	5,1808	0,4334	5,0645	- 0,5897
30	6720	340	5,8455	(5,14)			
31	6790	350	4,3798	[0,158]			
32	6750	350	5,4470				
33	6550	450	5,9461				
34	6720	210	2,9443				
35	6670	410	4,6981				
36	6600	370	4,6602	4,2350	0,9823	5,0645	- 0,1525
37	6550	350	4,7908	(6,39)			
38	6600	160	3,3928	[0,113]		Neues Pferdefleisch	
39	6550	250	4,3248				
40	6600	310	4,8340				
41	6550	360	5,5258				
42	6620	300	3,0681				
43	6800	250	3,3350	4,3021	0,5282	5,0645	+ 0,2342
44	6800	340	5,0721	(8,29)			
45	6800	340	4,3711	[0,092]			
46	6620	320	5,7681				
47	6670	200	2,9744				

F./I.

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g und Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g u. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Amino-N und Kreatinin () pro Tag durch- schnittlich in einer Periode in mg			
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg				
0,3226	0,2543 5,5631	4,8936	3,7898 82,8933	428,1	2,3595	107,0	107,7 (409,0)			
0,2030		3,1804								
0,2275		3,5663								
0,6014		8,3011								
0,3001	0,2466 5,5866	4,5570	3,7053 83,9424	326,7	2,1438	108,9	108,9 (317,0)			
0,1591		2,3251								
0,3486		5,7567								
0,1952		2,6317								
0,1901		2,8615		320,4	3,2007	106,8				
0,1768		2,8301								
0,2073		2,5882		329,7	2,7494	109,9				
0,1786		2,8106								
0,3060		4,5243								
0,2812		3,8296		438,8	2,2384	109,7				
0,3864		6,2631								
0,4001	0,2772 6,1241	5,6799	3,7765 83,4251	324,5	2,4371	108,0	112,5 (379,6)			
0,2942		4,4420								
0,1209		1,7405								
0,3992		4,9976								
0,3328		4,2835		355,2	2,2268	118,4				
0,3177		4,3849								
0,3530		4,6838								
0,2745		3,4073								
0,3415	0,3396 6,5241	4,0578	4,2525 82,0819	367,5	2,5089	122,5	126,9 (330,5)			
0,3652		4,7039								
0,3726		4,8182								
0,2809		3,4300		386,7	2,4674	128,9				
0,3713		4,4926								
0,3712		4,8579								
0,1990		2,4152								
0,3177		3,8037		391,2	2,8788	130,4				
0,3082	3,8082									
0,3237	0,2835 6,6942	3,8806	3,4337 81,0791	380,4	2,9617	126,8	130,5 (320,7)			
0,2219		2,6544								
0,2847		3,4833								
0,3294		4,0017		384,3	2,6176	128,1				
0,2894		4,5595								
0,1684		2,4631								
0,1798		0,2337 5,4322		2,8442	3,5566 82,6712	456,9		2,8833	114,2	114,9 (278,4)
0,2788				4,2477						
0,2438	3,4608									
0,3111	4,8595									
0,1644	2,4616									

Biochemische Zeitschrift Band 148.

9

Tabelle 121

Versuchstag	Körpergewicht in g	Tägliche Harnmenge in ccm	Gesamt-N täglich im Harn in g	Gesamt-N pro Tag durchschnittlich in g Harnsäure () in mg Allantoin [] in g	Kot-N pro Tag durchschnittlich in g	Nahrungs-N pro Tag in g	N-Bilanz in g
							Bemerkungen
48	6850	330	3,2207	4,4582 (5,46) [0,113]	0,4453	5,0645	+ 0,1610
49	6750	330	5,3777				
50	6770	290	4,2350				
51	7000	250	3,5501				
52	6920	410	4,8956				
53	6720	500	5,9413				
54	6700	300	3,9875	4,3947 (6,34) [0,202]	0,5499	5,0645	+ 0,1199
55	6840	330	4,4383				
56	6840	290	3,6493				
57	6770	490	5,6413				
58	6720	480	3,8168				
59	6720	310	3,6893				
60	6720	420	4,0222	4,1588 (6,79) [0,196]	1,0421	5,0645	Neues, stark autoklavisiertes Pferdefleisch — 0,1364
61	6720	310	4,3060				
62	6700	430	3,7419				
63	6720	340	4,2719				
64	6700	530	4,7149				
65	6720	340	3,8331				
66	6670	360	4,0951	4,5871 (7,56) [0,176]	0,9356	5,0645	— 0,5583
67	6670	430	3,7482				
68	6650	530	4,7119				
69	6650	400	4,1679				
70	6700	360	4,6443				
71	6700	330	4,7295				
72	6720	420	4,7515	4,2296 (8,74) [0,197]	1,0344	5,0645	— 0,1995
73	6800	300	2,8020				
74	6700	540	6,3060				
75	6630	450	4,6658				
76	6700	300	2,5862				
77	6700	480	6,3482				
78	6600	450	4,8170	4,1842 (11,67) [0,217]	1,0721	5,0645	— 0,1918
79	6600	370	4,2366				
80	6700	440	3,9775				
81	6650	370	4,1357				
82	6560	530	3,5061				
83	6700	280	2,9716				
84	6620	620	5,4117	4,1842 (11,67) [0,217]	1,0721	5,0645	— 0,1918
85	6600	460	4,3854				
86	6650	480	3,3055				
87	6640	500	5,0436				
88	6590	530	3,9945				
89	6640	490	4,1245				
90	6620	410	3,6553	4,1842 (11,67) [0,217]	1,0721	5,0645	— 0,1918
91	6650	580	4,7662				

Fortsetzung.)

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g und Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g u. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Amino-N und Kreatinin () pro Tag durch- schnittlich in einer Periode in mg																							
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg																								
0,1781 0,3147 0,2335 0,1859 0,2825 0,3402 0,2299	0,2521 5,6552	2,6785 4,5117 3,5386 2,9757 4,1187 4,9236 3,3579	3,7292 83,4462	306,3	2,3270	102,1	103,7 (379,7)																							
0,2689 0,2019 0,3085 0,2120 0,2210 0,2285 0,2591		0,2333 5,3086		3,7914 3,1827 4,7061 3,2925 3,2810 3,3826 3,5915	3,6040 82,0101	310,2		2,0951	103,4																					
0,2406 0,2373 0,3160 0,2577 0,2501 0,2294 0,2830				0,2592 6,2283		3,1186 3,4923 3,8455 3,1429 3,3864 3,0700 3,8714		3,4182 82,1919	317,5	2,3126	105,8																			
0,2858 0,2889 0,2961 0,3285 0,1830 0,3896 0,2938						0,2965 6,4637			3,4177 3,8583 3,8951 3,9280 2,2761 5,2633 3,8436	3,7832 82,4529	356,5	3,0923	118,8																	
0,1716 0,4069 0,3404 0,2420 0,2429 0,2657 0,2128									0,2689 6,3575		2,1065 5,2888 3,9718 3,4600 3,2326 3,3993	2,5760 82,2031	364,5	2,9586	121,5															
0,2068 0,3607 0,2897 0,2039 0,3207 0,2773 0,2878 0,2448 0,3236											0,2794 6,6774		4,4601 3,5821 2,6933 4,0773 3,0628 3,3469 2,9517 3,8836	3,5328 81,4797	515,6	3,1455	128,9													
										</																				

Tabelle III.

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harmmenge in ccm	Gesamt-N täglich im Harn in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g Harnsäure () in mg Allantoin[] in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N pro Tag in g	N-Bilanz in g
Bemerkungen							
92	6600	410	4,3307	4,1706 (9,58) [0,266]	1,1857	5,0645	— 0,2918
93	6620	470	4,0130				
94	6600	480	4,0001				
95	6600	460	3,9609				
96	6600	380	4,2149				
97	6600	440	4,1770	4,1298 (10,25) [0,301]	1,2988	5,0645	— 0,3841
98	6600	500	4,4981				
99	6570	450	4,0912				
100	6600	410	4,0098				
101	6600	560	4,1312				
102	6600	460	4,5863	3,5187 (10,61) [0,271]	2,0022	5,0645	— 0,4564
103	6600	440	4,2411				
104	6620	450	4,1322				
105	6560	430	3,7171				
106	6600	610	3,6207				
107	6600	320	3,6613	4,7621	3,1906	7,7265	— 0,2262
108	6500	410	3,4646				
109	6600	330	1,9670				
110	6540	570	5,2838				
111	6500	470	2,9322				
112	6440	400	3,4296	5,0703		Zulage 2,7 g N	
113	6440	440	3,7905				
114	6400	420	4,6989				
115	6400	340	4,2287				
116	6390	580	4,5252				
117	6400	480	4,6916	4,6179		Krank, 4 Tage Hunger, Büchsenfleisch	
118	6400	670	4,3016				
119	6400	570	5,6110				
120	6390	450	5,2777				
121	6320	500	4,7539				
126				5,5856		Vitaminfreies Pferde- fleisch	
130	6040	290	5,2587				
131	6070	360	5,3722				
132	6090	420	5,4126				
133	6110	350	5,0492				
134	6120	380	4,2590				
135	6120	430	4,6813				
136	6120	360	3,9715				
137	6220	390	4,7779				
138	6300	300	5,0407				
144				5,5856			
239	5500	300	5,2789				
240	5500	460	5,8923				

(Fortsetzung.)

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g und Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g u. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Amino-N und Kreatinin () pro Tag durch- schnittlich in einer Periode in mg
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg	
0,2918	0,2972 7,1261	3,5729	3,4024 81,5805	444,6	3,6018	148,2	146,7 (362,7)
0,2751		3,2792					
0,2790		3,2676					
0,2736		3,2162					
0,3093		3,4414					
0,3117	0,3111 7,5330	3,3890	3,2751 79,3040	435,1	3,5223	145,0	
0,3397		3,6502					
0,2996		3,3225					
0,3134		3,1280					
0,2989		3,3017					
0,3328	0,3942 11,2032	3,6656	2,6234 74,5843	442,5	3,5121	147,5	163,4 (392,1)
0,3132		3,3411					
0,3143		3,2690					
0,3051		2,8973					
0,3297		2,7172					
0,3375	0,3986 8,8458	2,6040	476,8	558,2	4,8666	186,0	
0,3331		2,5887					
0,1866		1,4799					
0,5043		3,9720					
0,3060		2,1672					
0,3631	0,4375 8,0357	2,5217	642,9	570,3	6,2719	190,1	202,6 (364,7)
0,3990		2,8304					
0,4337		3,6025					
0,3991		3,2480					
0,4525		3,5135					
0,4117	0,4375 8,0357	3,7553	664,8	640,2	4,7357	213,4	
0,3315		3,4901					
0,4364		4,5075					
0,4387		4,2967					
0,3930		3,8083					
0,4099	0,3744 7,3842	4,2582	483,8	430,4	3,0766	143,4	154,1
0,4074		4,3470					
0,3951		4,5302					
0,3692		4,1632					
0,2903		3,5368					
0,3345	0,3173 6,8710	3,8982	385,8	2,7979	128,6		132,3
0,2733		3,3001					
0,3293		3,0778					
0,3323		4,2344					
0,3147		4,9026					
0,3129	0,3138 5,6180	4,6179 5,1843	4,9026 87,7721				

Tabelle 11.

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harnmenge in ccm	Gesamt-N täglich im Harn in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g Harnsäure () in mg Allantoin [] in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N pro Tag in g	N-Bilanz in g
							Bemerkungen
241	5550	320	4,8015	5,7771	0,8374	7,0400	+ 0,4255
242	5550	300	6,6239				
243	5500	560	5,4762				
244	5500	480	5,3856				
245	5500	530	4,7596				
246	5500	490	5,3457				
247	5500	570	6,1250				
248	5500	460	6,1352				
249	5550	430	6,3384				
250	5500	460	6,0935				
251	5550	420	5,9761	6,5501			Krank und Speise- verweigerung
252	5500	390	6,2641				
253	5550	450	6,8298				
254	5500	430	6,4602				
255	5550	440	6,3605				
256	5500	500	4,8614				

säure, während das Allantoin ein undeutliches Verhalten zeigt. Der Kreatinin-gehalt des Harns zeigt Schwankungen. Vom 27. bis 33. Tage betrug der Quotient Harnstoff : Ammoniak 12,52. Es bestand also eine Acidosis trotz guter Resorption.

Mit dem Wechsel in dem Pferdefleisch am 38. Tage — das neue Fleisch enthielt wohl etwas Vitamine — trat zunächst in dem betreffenden Versuchsabschnitte, nämlich in der Zeit vom 34. bis 40. Tage eine Verschlechterung der Resorption ein, aber die Negativität der N-Bilanz nahm trotzdem ab. Das zeigt also, daß trotz geringerer Resorption das resorbierte Eiweiß besser vom Körper verwertet werden konnte. In dieser Übergangsperiode nahm der Ammoniak- und Harnstoffgehalt ab, der Aminosäuregehalt überschritt einen gewissen Höhepunkt und nahm dann gegen Ende der Periode wieder ab. Die Harnsäureausscheidung zeigte noch eine leichte Vermehrung, das Allantoin blieb unverändert, das Kreatinin nahm ab. Der Quotient Harnstoff : Ammoniak lautete 12,11. Die Acidosis bestand also fort offenbar wegen der Resorptionsstörung.

Nach dieser Zwischenperiode zeigte das Tier vom 41. bis 61. Tage bei der geringen Vitaminzufuhr durch das Fleisch folgendes Verhalten. Das Körpergewicht nahm deutlich zu, die N-Bilanz wurde positiv, die N-Resorption besserte sich, ohne jedoch auf den Stand der Vorperiode zu kommen. Ammoniak und Aminosäuren verminderten sich, der Harnstoff blieb auf unveränderter Höhe. Harnsäure- und Allantoin- und Kreatinin-ausscheidung zeigten Schwankungen und verminderten sich gegen Ende dieser Zeit etwas. Der Quotient war vom 41. bis 47. Tage 15,21. Die Acidosis war also verschwunden.

Fortsetzung.)

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g und Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g u. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Amino-N und Kreatinin () pro Tag durch- schnittlich in einer Periode in mg
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg	
0,2878		4,0304		372,6	1,6488	92,0	92,0
0,3551		5,8149					
0,3049		4,7796					
0,2957		4,7479		374,3	1,7851	93,6	
0,2760		4,2049					
0,2916	0,3178	4,6623	5,0596				92,3
0,3597	5,5010	5,3919	88,1567				
0,3217		5,4076		366,9	1,4859	91,7	
0,3205		5,6813					
0,3192		5,4506					
0,3245		5,3490					
0,3240		5,5955		273,1	1,4320	91,0	
0,3421		5,8894	5,6940				101,8
0,3363	0,3327	5,6322	86,9299				
0,3199	5,0793	5,5604		321,8	1,8142	107,3	
0,3016							

Es hatten demnach die geringen Vitaminmengen im Fleisch zwar die Resorption des N nicht wesentlich verbessert, aber man kann aus der Zunahme des Körpergewichtes, wie aus der Übereinstimmung der Ammoniak-, Aminosäure- und Harnstoffwerte am Ende dieser Periode mit den entsprechenden Werten der Vorperiode (1. bis 11. Tag) schließen, daß der N-Umsatz wieder fast normal geworden war. Wahrscheinlich ist also der abnorme Protoplasmazerfall zum Stillstand gekommen. Auch die Harnsäure- und Allantoinausscheidung waren zurückgegangen, ohne jedoch ganz den Wert der Vorperiode zu erreichen.

Vom 62. Tage an habe ich nun dasselbe Pferdefleisch, das das Tier in der letzten Woche bekommen hatte, stark autoklavisiert. Als ich nun dieses Fleisch vom 62. bis 113. Tage in den gleichen Mengen, wie vorher, verfütterte, zeigte sich wieder ein allmählicher Abfall des Körpergewichtes und eine Verschlechterung der N-Resorption. Die tägliche Kot-N-Menge schnellte sofort auf den doppelten Wert, nämlich von 0,54 auf 1,04 g hinauf. Es war offenbar, daß diese Verschlechterung der Resorption nichts mit der Avitaminose, sondern nur etwas mit dem starken Erhitzen des an sich schon trockenen Fleisches zu tun hatte, und daß auch bei dem nachträglichen Kochen des Fleisches im Wasser bei der Zubereitung der Mahlzeit das Fleisch nicht so gelockert wurde, daß es besser verdauungsfähig wurde. Gleichzeitig wurde die N-Bilanz negativ, die negativen Werte schwankten in dieser Periode ganz unregelmäßig. Eine progressive Verschlechterung derselben war nicht zu sehen. Ammoniak und Aminosäure vermehrten sich, der Harnstoff nahm ab. Das kommt ganz besonders zum Ausdruck, wenn man die prozentige Verteilung der einzelnen N-Bestandteile im Harn

betrachtet. Der prozentige Harnsäure- und Allantoin- wie Kreatiningehalt des Harns nahmen zu. In dieser Periode verminderte sich gegen Ende die N-Ausscheidung im Harn wegen der herabgesetzten N-Resorption. Aber wenn man die verminderte N-Resorption in Betracht zieht und nach Maßgabe der Werte der Vorperiode (1. bis 11. Tag) ausrechnet, wieviel nicht der Nahrung entstammendes N mit dem Harn ausgeschieden wurde, dann findet man, daß etwa 0,5 g N aus zerfallenem Körpereweiß stammen mußten.

1. Harn-N pro Tag in der Vorperiode 4,6 g
2. Kot-N pro Tag in der Vorperiode 0,4 g
3. Harn-N pro Tag vom 106. bis 113. Tage . . . 3,5 g
4. Kot-N pro Tag vom 106. bis 113. Tage . . . 2,0 g

Zu wenig resorbierter N vom 106. bis 113. Tage: $2,0 - 0,4 = 1,6$ g.

Wenn man diese 1,6 g zu dem Harn-N von 3,5 g addiert, ergibt sich als mit der Vorperiode vergleichbarer Wert des Harn-N = 5,1 g. Es ist also zum Vergleich zur Vorperiode $5,1 - 4,6 = 0,5$ g N zu viel ausgeschieden worden, der nur aus dem Protoplasma stammen kann. In der verminderten Harn-N-Menge vom 106. bis 113. Tage kommt also ein gesteigerter N-Zerfall des Protoplasmas von 0,5 g zum Ausdruck. Faktisch ist die N-Bilanz in dieser Zeit auch etwa $-0,5$ g. Der Quotient Harnstoff : Ammoniak war vom 62. bis 68. Tage 13,18 und vom 106. bis 113. Tage 6,65. Es hatte sich also wegen der Resorptionsstörung eine sehr starke Acidosis entwickelt bei stark erhöhtem Protoplasmazerfall.

Der Hund hatte vom 106. bis 113. Tage nur etwa 3 g Nahrungs-N resorbiert. Es lag also die Möglichkeit vor, daß die gesteigerte N-Ausfuhr von 0,5 g auf N-Hunger beruhte, und daß die absolut verringerte N-Ausfuhr eben aus Ersparnisgründen erfolgte. Dafür sprach auch, daß trotz der entsprechend verringerten Gesamt-N-Menge des Harns die absoluten Mengen von Ammoniak und Aminosäuren und natürlich auch die prozentigen Mengen dieser Körper im Harn gegenüber der Vorperiode deutlich gesteigert waren, während die absolute und prozentige Harnstoffmenge sich gegenüber der Vorperiode vermindert hatte. Das aber sind die Harnveränderungen, wie man sie beim einfachen Hungerzustande antrifft. In dieser Periode war also sicher die Avitaminose mit N-Hunger kompliziert.

Wenn man die oben aufgestellte Rechnung für alle vorausgehenden Perioden bei diesem Versuche durchführt, dann findet man, daß trotz normaler N-Resorption vom 27. bis 33. Versuchstage im Vergleich zur Vorperiode eine beträchtlich gesteigerte N-Ausfuhr statthatte. Auch hier bestand eine Acidosis. Da das Tier in dieser Zeit bereits 0,5 kg an Körpergewicht gegenüber der Vorperiode verloren hatte, bekam es also, auf sein Gewicht berechnet, vom 27. bis 33. Versuchstage einen N-Überschuß, den es auch glatt resorbierte. Trotzdem war die N-Bilanz im Gegensatz zur Vorperiode stark negativ geworden. In dieser Periode vom 27. bis 33. Tage waren aber die absoluten und prozentigen Ammoniak- und Aminosäuremengen im Rahmen der an sich gesteigerten Harn-N-Menge ebenfalls vermehrt, die absolute Harnstoffmenge war auch vermehrt, die prozentige Harnstoffmenge dagegen normal. Es ist daher zweifelhaft, ob es sich in dieser Zeit vom 27. bis 33. Versuchstage um N-Hunger gehandelt hat. N-Hunger könnte nur in dem Sinne bestanden haben, daß bei einer Steigerung des N-Umsatzes der in normalem Umfange resorbierte N nicht mehr genügte. Trotzdem waren die Erscheinungen am Harnstickstoff prinzipiell, wenn auch in abgeschwächtem Maße, dieselben, wie in der späteren Periode vom

106. bis 113. Tage, in der ich annahm, daß ein gewisser N-Hunger obwaltete; nur ein Unterschied bestand: es war in der früheren Periode (27. bis 33. Tag) die absolute Harnstoffmenge mehr vermehrt, die prozentige normal geblieben, während in der wohl zweifellosen N-Hungerperiode (106. bis 113. Tag) die Harnstoffwerte sich durchgängig vermindert hatten. Das zeigen auch die Quotienten (27. bis 33. Tag: 12,52; 106. bis 113. Tag: 6,65), daß in der letzten Periode eine sehr starke, in der ersteren eine leichtere Acidosis bestand. Da aber die Acidosis vom 27. bis 33. Tage auf keiner Resorptionsstörung beruhen kann, muß primär ein verstärkter Protoplasmazerfall stattgefunden haben, bei dem die quantitativ resorbierte Nahrung, die vorher genügt hatte, ungenügend an Menge geworden war. Darum muß man annehmen, daß es sich in der Zeit vom 27. bis 33. Tage um einen relativen N-Mangel in bezug auf den in dieser Periode offenbar vorhandenen starken Protoplasmazerfall gehandelt hat. Vom 106. bis 113. Tage handelte es sich aber sicher nur um einfachen N-Hunger infolge mangelhafter Resorption.

Aus diesem Grunde habe ich nunmehr im Anschluß an die Periode vom 106. bis 113. Tage den Eiweißgehalt der Nahrung des Hundes gesteigert, um zu sehen, wieweit ich dadurch den N-Hunger durch Hebung der Resorption beseitigen könnte. Das Tier bekam von dem stark autoklavisierten Pferdefleisch statt 21 g nunmehr 32 g, an Stelle der 15 g autoklavisierten Weizeneiweißes 25 g. Die autoklavisierte Butter verminderte ich um 5 g, ließ auch die 10 g Zucker weg, um die Kalorienzahl ungefähr unverändert zu erhalten. Das geschah vom 113. bis 121. Tage. Von dem Plus an Eiweiß, das das Tier jetzt mit der Nahrung erhielt, wurden ungefähr 1,5 g resorbiert, die Negativität der N-Bilanz ging von - 0,45 auf - 0,23 g zurück, die absolute Ammoniakmenge stieg etwas an, der Prozentgehalt des Ammoniakstickstoffs im Rahmen des Gesamtharn-N war aber vermindert, die absolute und prozentige Harnstoffmenge war deutlich vermehrt. Die Aminosäureausscheidung ging vorübergehend etwas zurück. Der Quotient Harnstoff: Ammoniak war vom 114. bis 120. Tage 9,09.

Es war also durch die verstärkte N-Zulage zur Nahrung und die konsekutiv verstärkte N-Resorption die Art und Weise der Verteilung der N-haltigen Harnbestandteile wieder etwas der Norm angenähert worden, die Acidosis hatte sich etwas gebessert. Daraus geht hervor, daß es sich in der vorausgehenden Periode vom 106. bis 113. Tage mindestens zum Teil um einfachen N-Hunger durch mangelhafte N-Resorption gehandelt hat.

Infolge der stark forcierten Eiweißernährung traten bei dem Hunde nun schwere Verdauungsstörungen vom 122. Tage an auf, so daß ich den Hund vom 122. bis 126. Tage hungern ließ.

Vom 127. bis 143. Tage bekam alsdann der Hund an Stelle der autoklavisierten Butter vitaminfreies Schweineschmalz und an Stelle der 32 g vitaminfreien Pferdefleisches 20 g Büchsenrindfleisch, das ausweislich des Verhaltens des Stoffwechsels nicht ganz vitaminfrei gewesen sein konnte. Das Körpergewicht nahm in dieser Zeit allmählich zu; Ammoniak- und Aminosäuregehalt des Harns gingen wieder zurück, ohne jedoch ganz die Normalwerte der Vorperiode zu erreichen. Der Harnstoffgehalt war normal. Der Quotient Harnstoff: Ammoniak war vom 130. bis 134. Tage 11,13. Die Acidosis war wesentlich gebessert; der Quotient betrug vom 135. bis 138. Tage 12,13.

Vom 144. Tage an wurde nun der Hund völlig vitaminfrei ernährt bei im Vergleich zur Vorperiode gesteigertem Eiweißgehalt, aber gleichem Kaloriengehalt der Nahrung. Er bekam 2 g N mehr als in der Vorperiode, obschon sein Körpergewicht 1 kg geringer war als in der Vorperiode. Bis zum 239. Tage wurde der Hund in dieser Weise gefüttert. Analysen wurden nicht gemacht, es wurde nur darauf geachtet, daß das Futter immer quantitativ aufgefressen wurde. Vom 239. bis 256. Tage wurde dann der Stoffwechsel wieder genau untersucht.

Vom 144. bis 239. Tage hatte der Hund etwa 800 g an Körpergewicht verloren. In der Zeit vom 241. bis 252. Tage waren 6,2026 g N täglich resorbiert worden. Der tägliche Kot-N betrug 0,84 g, war also doppelt so groß wie in der Vorperiode. Aber es war ja auch der Nahrungs-N gegenüber der Vorperiode um 2 g vermehrt worden. Man kann also wohl sagen, daß die N-Resorption in dieser Periode nicht gestört war. Das Tier befand sich in positiver N-Bilanz, und zwar war diese mit + 0,43 g stärker als in der Vorperiode mit + 0,15 g. Der Quotient Harnstoff : Ammoniak war in dieser Periode mit 15,92 völlig normal geworden.

Aus alledem ergibt sich, daß bei diesem Hunde nach einer etwa 100tägigen vitaminfreien Ernährung das Körpergewicht langsam abnahm, die N-Resorption ziemlich ungestört verlief, daß die N-Bilanz noch positiv war, und daß eine sehr energische Harnstoffbildung statthatte und keine Acidosis bestand. Das trat alles bei einem für das Körpergewicht des Tieres übermäßig großen Kaloriengehalt und besonders bei einem verhältnismäßig noch größeren Eiweißgehalt in der Nahrung auf.

Vom 253. Tage an gelang es nur mit Mühe, dem Hunde das Futter quantitativ beizubringen. Der Verdacht auf ein Heranziehen einer neuen Darmstörung lag nahe. In der Tat traten auch wieder die bekannten Erscheinungen im Harnbilde auf, die auf eine prozentige Verminderung des Harnstoffes hinausliefen. Am 256. Tage verweigerte der Hund denn auch in der Tat die Nahrungsaufnahme, so daß ich den Versuch abbrach.

Das allgemeine Ergebnis dieses Versuchs ist folgendes:

Bei einem alten Hunde zeigt die Avitaminose einen äußerst chronischen Verlauf. Schon die Zulage von sehr geringen Vitaminmengen, die in Nahrungsmitteln, wie z. B. Büchsenfleisch, enthalten sind, die gemeinhin als vitaminfrei gelten, haben einen großen Einfluß auf den N-Stoffwechsel. Im Verlauf der Krankheit treten gelegentlich Darmstörungen auf, die zu einer verminderten N-Resorption und dann zu einer Herabsetzung der Harnstoffbildung zugunsten einer Vermehrung der Ammoniak- und Aminosäureausscheidung führen. Diese Darmstörungen erwiesen sich aber in dem vorliegenden Falle von vorübergehender Natur. Durch forcierte Ernährung, besonders mit Eiweiß, läßt sich bei einem solchen Hunde lange Zeit der Eiweißstoffwechsel in ungefähr normaler Weise aufrecht erhalten, wobei sogar die Harnstoffbildung sehr energisch vor sich geht und keinerlei Anzeichen für eine Acidosis am Harne auftreten, ja sogar ein N-Ansatz noch möglich ist.

Da ausweislich des ersten und zweiten Versuchs die N-Resorptionsstörungen in dem Umfange, wie sie bei allen diesen Versuchen beobachtet wurden, keinen entscheidenden Einfluß auf den Purinstoffwechsel haben, indem nämlich bei dem ersten und zweiten kurzfristigen Versuche keine entscheidenden Änderungen in der Harnsäure- und Allantoinausscheidung auftraten, und da überhaupt im Hunger die Harnsäureausscheidung sich auf einen Minimalwert einstellt, um erst bei exzessivem Hunger, wenn es

zum allgemeinen Eiweißzerfall kommt, anzusteigen [Cathcart (10)], ist der Schluß berechtigt, daß bei diesem dritten Hunde die bei gleicher Purinzufuhr durch die Nahrung vom 61. bis 113. Versuchstage progressiv auftretende Vermehrung der Harnsäure wie auch des Allantoins, wie aus den Analysen von *Adachi* (3) hervorgeht, eine Avitaminoseerscheinung ist. In dieser Zeit verlief auch die Harnsäureausscheidungskurve mit der entsprechenden Allantoinkurve parallel, während vorher eine vermehrte Harnsäureausscheidung mit einer verminderten Allantoinausscheidung im allgemeinen zusammenfiel.

Dieser Hund ist ein Beispiel für eine Form der Avitaminose, die außerordentlich chronisch verläuft. Daß der Hund schließlich doch eine manifeste Avitaminose hatte, geht daraus hervor, daß bei ihm vorübergehende leichte *Paresen* an den Beinen auftraten, und daß vor allem am Ende des Versuchs eine schwere Korneatrübung vorhanden war. Ferner ist der Hund ein Beispiel dafür, daß während der Avitaminose *vorübergehende* Resorptionsstörungen auftreten können, daß aber trotz vorgeschrittener Krankheit die Resorption doch auch noch normal verlaufen kann, und daß zu dieser Zeit erheblichere Störungen am N-Stoffwechsel noch nicht vorhanden zu sein brauchen, wenn man den Purinstoffwechsel unberücksichtigt läßt. Bemerkenswert ist ferner, daß in dieser Zeit durch eine vermehrte Eiweißzufuhr auch noch mehr N zur Resorption, ja in geringem Maße auch zur Retention gebracht werden kann.

Der Verlauf der Avitaminose bei diesem Hunde hat ferner große Ähnlichkeit mit demjenigen der Krankheit bei dem älteren Hunde von *Hirabayashi* (2). Der *Hirabayashi*sche Hund war dauernd mit Eiweiß forciert ernährt worden. Er zeigte in einer späteren Periode sehr viel schwerere Darmstörungen als mein Hund, aber er blieb bis zu seinem spontan erfolgenden Tode in positiver N-Bilanz, mit Ausnahme von zwei kurzen Perioden, in denen die Nahrungsaufnahme ganz besonders stark eingeschränkt war.

Vierter Versuch.

Hund, 3 Monate alt, männlich, Anfangsgewicht 2600 g. Der Hund erhält 3 Tage vitaminhaltiges Futter und dann die vitaminfreie Nahrung. Er stirbt spontan nach 14tägiger avitaminöser Fütterung. Klinischer Verlauf: starker Körpergewichtssturz, keine Verdauungsstörungen bis zum 12. Tage. Am 13. Tage Weigerung der Nahrungsaufnahme; am 14. Tage blutige Diarrhöe und Tod unter den Erscheinungen allgemeiner Schwäche. Im Duodenum fanden sich starke skorbutische Blutungen.

Nahrung: 20 g Reis, 15 g Weizeneiweiß, 5 g Schweineschmalz, 1 g *Osbornesches* Salzgemisch, 200 ccm Aqua dest. N-Gehalt der Nahrung 2,3765 g. Kaloriengehalt der Nahrung etwa 190 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 70 Cal. Nahrung wurde bei 120—125°C 3 Stunden autoklavisiert.

In der dreitägigen Vorperiode bekam das Tier außerdem Saft von frischen Tomaten, etwa 50 ccm.

Die ganze Nahrung der Hauptperiode war im Autoklaven bei 120 bis 125°C 3 Stunden erhitzt worden. Sie war also sicher vitaminfrei.

Dieser vierte Hund ist das Gegenstück zum dritten Hunde: der erstere war ein ganz junges, der letztere ein sehr altes Tier; bei dem ersteren dauerte die Avitaminose 2 Wochen und führte zum Tode, bei dem letzteren war nach 256tägiger Dauer der Tod noch nicht eingetreten.

Wenn auch bei diesem vierten Hunde (Tabelle IV) kein strenger Stoffwechselversuch mit genauer Kotanalyse und einer längeren Vorperiode

Tabelle IV.

Versuchs- tag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harmmenge in cem	Gesamt-N täglich in g	Gesamt-N pro Tag durchschnittlich in g	Harn- Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durchschnittlich und Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durchschnittlich und Proz. des Gesamt-N	Bemerkungen
16.VIII. 1923									
1	2600	140	1,9648	1,6971	0,1257	0,1091	1,5346	1,3383	
2	2560	230	1,7368		0,1128	6,4286	1,3714	78,8580	
3	2520	200	1,3897		0,0889		1,1088		
4	2450	280	1,8057		0,1175				
5	2400	260	1,4825		0,0933		1,1886		
6	2300	280	1,9456	1,8639	0,1167	0,1120	1,5704	1,4887	
7	2300	260	2,1030		0,1260	6,0095	1,7071	79,8787	
8	2250	250	2,3000		0,1334		1,8114		
9	2200	120	2,1731	2,2805	0,1282	0,1306	1,7907	1,8623	
10	2200	200	2,3684		0,1302	5,7268	1,9847	81,6619	
11	2120	250	1,7684	1,5741	0,1194		1,3600	1,2072	
12	2070	230	1,3798		0,1096		1,0545	76,6014	
13									
14									

Am 14. Tage
blutig diarrhöch
gestorben

durchgeführt wurde, so geht doch aus der Harnanalyse hervor, daß die Harnstoffbildung sich nicht verminderte, ja daß sie sogar bis zum 10. Tage eine Steigerung erkennen ließ, und daß die Ammoniakausscheidung in ihren absoluten Werten sich zwar etwas vermehrte, daß aber der prozentige Ammoniak-N im Rahmen des Gesamtharn-N sich etwas verminderte. Erst in den letzten drei Lebenstagen änderte sich das Harnbild und wurde so, wie wir es bei den anderen Hunden gesehen haben, wenn eine N-Resorptionsstörung auftrat. Die gesamte N-Ausscheidung im Harn nahm, so lange das Futter quantitativ gefressen wurde, progressiv zu.

Das allgemeine Ergebnis dieses Versuchs kann man folgendermaßen zusammenfassen:

Bei einem sehr jungen Hunde verläuft die Avitaminose in der Form einer akuten Krankheit mit starkem Körpergewichtssturz, vermehrter N-Ausscheidung bei ungefähr qualitativ normalem N-Umsatz.

Fünfter Versuch.

Hund, etwa 1½ Jahre alt, weiblich, Anfangsgewicht 4900 g; der Hund erhielt 4 Tage das Futter mit Zulage von 60 ccm frischen Tomatensaftes. Er wurde dann 21 Tage lang vitaminfrei ernährt. Darauf bekam er vom 22. bis 27. Tage eine Zulage von Vitamin in Form von frischem Citronensaft und Hefe.

Klinischer Verlauf der Avitaminose: Körpergewichtsabnahme.

Nahrung: 50 g Reis, 35 g Weizenmehl, 10 g Pferdefleisch, 5 g Schweineschmalz, 2 g *Osbornesches* Salzgemisch, 300 ccm Aqua dest. N-Gehalt der Nahrung 2,3795 g. Kaloriengehalt der Nahrung etwa 415 Cal, pro 1 kg Körpergewicht 85 Cal.

Die ganze Nahrung wurde bei 120 bis 125° C 3 Stunden autoklavisiert.

Bei diesem Hunde habe ich bei der vitaminhaltigen Vorperiode keine Analysen gemacht. In der vitaminfreien Periode habe ich den Harn analysiert vom 1. bis 6. Tage und dann wieder vom 20. bis 21. Tage. Darauf begann die vitaminhaltige Periode mit der Hefe- und Citronensaftzulage zu der autoklavisierten Nahrung. Ich habe den Harn vom 23. bis 27. Tage analysiert und dann den Versuch abgebrochen. Kotanalysen wurden in keiner Periode gemacht. Das Futter wurde immer quantitativ aufgefressen, klinisch waren Verdauungsstörungen nicht nachweisbar. (Tabelle V.)

In der vitaminfreien Periode vom 1. bis 6. Tage verminderte sich das Körpergewicht etwas, die Gesamt-N-Ausscheidung durch den Harn nahm langsam zu, die absolute Harnstoffmenge vermehrte sich bei gleichbleibender prozentiger Harnstoffmenge, das Ammoniak nahm in seinen absoluten und prozentigen Mengen zu, die Aminosäuren nahmen absolut zu.

In der vitaminfreien Periode vom 20. bis 21. Tage war das Körpergewicht weiter stark gefallen, die Gesamt-N-Ausscheidung im Harn hatte sich stark vermehrt, die absolute Harnstoffmenge war vielleicht etwas vermehrt, prozentig war sie jedenfalls stärker vermindert. Der Ammoniakgehalt war absolut und prozentig stark vermehrt, ebenso die Aminosäuren.

Wieweit bei den Erscheinungen in der Periode vom 20. bis 21. Tage N-Resorptionsstörungen eine Rolle spielen, ist nicht mit Sicherheit zu sagen. Als ich aber nunmehr dem Hunde die Vitaminzulage gab, blieb das Körpergewicht sofort stehen, nahm sogar ein wenig zu, die Gesamt-N-Ausscheidung ging auf die Werte zu Versuchsbeginn zurück, ebenso zeigte der Harnstoffgehalt bald wieder das anfängliche Verhalten und beim Ammoniak und den Aminosäuren trat dasselbe auf.

Das allgemeine Ergebnis dieses Versuches ist das, daß die durch den Vitaminmangel der Nahrung erzeugten Veränderungen am N-Stoffwechsel, mögen sie nun primär avitaminöser Natur sein, wie wohl in der Zeit vom 1. bis 6. Tage oder vielleicht gleichzeitig auch durch N-Resorptionsstörungen, wie am 21. bis 22. Tage, hervorgerufen sein, durch Vitaminsulage alsbald wieder rückgängig gemacht werden.

Sechster Versuch.

Hund, etwa 1 Jahr alt, weiblich, Anfangskörpergewicht 6850 g. Vor Beginn des Versuches ließ ich den Hund 2 Tage hungern. Darauf begann sofort die vitaminfreie Ernährung. Klinischer Verlauf der Avitaminose: Nach einer vorübergehenden initialen Steigerung des Körpergewichtes, die zum Teil wenigstens mit dem vorausgegangenen zweitägigen Fasten in Verbindung stehen dürfte, senkte sich vom 11. Versuchstage an progressiv das Körpergewicht. Magen-Darmstörungen zeigten sich nicht, mit Ausnahme vom 17. bis 18. Versuchstage, an denen der Kot etwas weich war, ohne daß Diarrhöe bestand. Unter Behandlung des Tieres mit dem Bauchschutz wurde der Kot alsbald wieder ganz fest, d. h. er wurde wieder wie sonst immer in der Form harter Knollen entleert. Etwa vom 53. Tage der Krankheit an zeigte der Hund Lähmungen an allen Extremitäten. Schließlich konnte er nicht mehr allein stehen. Am 61. Tage wurde der Hund an den vier Füßen etwas ödematös. Auf das Körpergewicht hatte das Ödem keinen deutlichen Einfluß. Am 67. Tage starb der Hund an allgemeiner Entkräftung spontan. Er wurde vom 1. bis zum 66. Tage mit der Sonde ernährt, so daß die Nahrung während des ganzen Versuches ihm quantitativ zugeführt worden war. Bei der Sektion fand sich eine allgemeine Anämie, Fettgewebe war makroskopisch kaum mehr sichtbar, die Magen-Darmschleimhaut war makroskopisch von völlig normalem Aussehen, das Mark der Nebennieren war vielleicht etwas vergrößert, die Lymphdrüsen im Abdomen schienen etwas groß, im Rückenmark fanden sich bei der mikroskopischen Untersuchung deutliche Degenerationen in den Hintersträngen und Pyramidenseitensträngen.

Nahrung: 35 g Reis (1 g 12,8 mg N), 40 g Weizeneiweiß (1 g 141,5 mg N), 20 g Margarine, 2 g Osbornesches Salzgemisch, 350 ccm Aqua dest. N-Gehalt der Nahrung 6,1080 g. Kaloriengehalt der Nahrung etwa 480 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 70 Cal.

Die Nahrung wurde bei 120 bis 130° C 3 Stunden autoklavisiert.

Die Nahrung dieses Tieres entsprach der Nahrung, die der *Tsujische* (1) Hund bekommen hatte, nur daß der *Tsujische* Hund zellsalzarm, mein Hund aber mit genügendem Zellsalzgehalt ernährt worden war. Das Ergebnis beider Versuche war identisch.

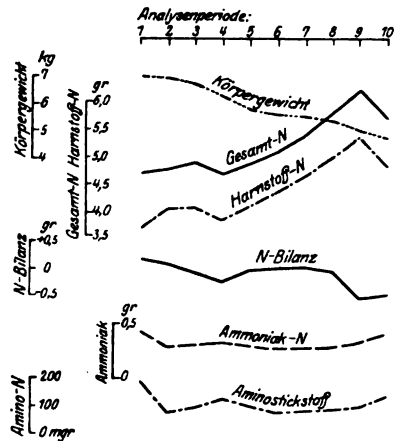


Abb. 4. Zu Versuch 6.

Tabelle

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harnmenge in ccm	Gesamt-N täglich in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
Bemerkungen							
31. VII. 23							
1	6850	300	3,8256	4,7368	1,2195	6,1080	+ 0,1517
2	6950	360	6,3164				
3	7000	240	4,2169				
4	7100	320	5,9202				
5	7000	280	3,8048				
6	6950	270	4,3728				
7	6900	350	4,7008				
8	6900	280	4,9491	4,8908	1,1571	6,1080	+ 0,0601
9	6950	280	4,8051				
10	6900	240	4,5859				
11	6900	280	4,4237				
12	6900	280	4,8115				
13	6820	300	4,4742				
14	6750	260	6,1868				
15	6750	320	4,9586	4,9603	1,2579	6,1080	- 0,1102 Foetor ex ore Bauchschut
16	6700	300	4,7208				
17	6650	310	5,2117				
18							
19							
20	6490	300	6,8996	4,7795	1,5819	6,1080	- 0,2534
21	6400	320	3,7297				
22	6300	300	5,2290				
23	6200	260	3,8611				
24	6120	280	5,1874				
25	6010	320	4,3270				
26	5950	340	4,2231				
27	5900	250	3,0050	4,9385	1,1503	6,1080	+ 0,0192
28	5850	320	6,0411				
29	5800	350	4,8345				
30	5740	370	5,5612				
31	5700	360	5,5708				
32	5650	320	4,6737				
33	5600	300	4,8822				
34	5630	280	5,1633	5,1582	0,9125	6,1080	+ 0,0373
35	5630	320	4,7152				
36	5620	300	5,3922				
37	5620	350	5,0053				
38	5600	360	5,2167				
39	5620	300	5,1768				
40	5610	240	5,4389				

VI.

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g. Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Periode in mg
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg	
0,6597	0,4138 8,7358	2,5724	3,7685 79,5579	905,1020	6,3028	301,7	187,2
0,7553		4,8486					
0,2949		3,4483					
0,3804		4,8806		251,0110	2,5810	125,5	
0,2604		3,0977					
0,2863		3,5958					
0,2592		3,9358		231,7345	1,6823	77,2	
0,2893	0,2860 5,8475	4,1124	4,1221 84,2808				79,2
0,2753		4,0728					
0,2639		3,8611		240,8956	1,7430	80,2	
0,2699		3,7195					
0,2828		4,0871					
0,2676		3,7554		237,8911	1,5375	79,2	
0,3534		5,2464					
0,2808	0,3021 6,0891	4,1242	4,1014 82,6845	160,8213	1,6632	80,4	86,4
0,2725		3,9098		98,5793	1,8915	98,5	
0,3530		4,2702					
0,4337	0,3316 6,9379	5,6638	3,9355 82,3412	416,7405	2,6279	138,9	132,3
0,2926		3,0634					
0,3909		4,2649					
0,2512		3,2007		395,7202	2,9583	131,9	
0,3727		4,2924					
0,2867		3,5781					
0,2934		3,4853		342,1836	2,5789	114,0	
0,2023	0,2992 6,0585	2,5288	4,1782 84,6046				99,3
0,4133		5,1438					
0,2839		4,0932		296,8161	1,8596	98,9	
0,3238		4,6972					
0,3305		4,6508					
0,2689		3,9639		256,0468	1,7395	85,3	
0,2721		4,1698					
0,2818	0,2826 5,4786	4,4456	4,4312 85,9059	243,3726	1,6942	81,1	80,8
0,2644		3,9858					
0,2907		4,6555					
0,2892		4,3123		236,9120	1,4963	78,9	
0,3042		4,4829					
0,2920		4,4439					
0,2857		4,6926					

Tabelle VI.

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harmmenge in ccm	Gesamt-N täglich in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
							Bemerkungen
41	5600	260	5,8418	5,4959	0,5874	6,1080	+ 0,0247
42	5600	350	5,8822				
43	5580	320	5,4515				
44	5600	280	4,9683				
45	5600	350	5,3840				
46	5590	320	5,4359				
47	5570	300	5,5076	5,8151	0,3757	6,1080	— 0,0828
48	5520	260	5,3265				
49	5480	300	5,7271				
50	5450	300	5,4470				
51	5400	350	5,8455				
52	5360	300	6,0867				
53	5300	280	5,9178	6,3028	0,3831	6,1080	— 0,5779
54	5230	340	5,3549				
55	5190	320	6,3437				
56	5120	260	6,5454				
57	5080	300	5,3966				
58	5020	320	6,3350				
59	4960	320	6,5426	5,7064	0,8819	6,1080	— 0,4803
60	4840	280	6,6527				
61	4750	300	6,3041				
62	4730	310	5,9315				
63	4680	280	5,6488				
64	4650	280	5,8267				
65	4580	360	5,4187				
66	4570	300					
67							Gestorben

Aus der Betrachtung der Tabelle VI geht hervor, daß der Kot-N-Wert, abgesehen von einer kleinen Steigerung von 0,3 g N pro Tag in der Zeit, als der Kot etwas weich gewesen war, nämlich in der Periode vom 20. bis 26. Versuchstage, allmählich im Verlaufe der Avitaminose sich verminderte. Nur in der prämortalen Periode stieg er um 0,6 g pro Tag wieder an, ohne jedoch damit den ursprünglichen Wert in den ersten Wochen der Krankheit zu erreichen. Es wurden auch in der prämortalen Periode noch täglich 0,3 g N mehr resorbiert, als zu Beginn der Krankheit. Das beweist, daß mit fortschreitender Avitaminose die Resorption des Nahrungs-N eine immer bessere wird, wenn, wie in diesem Falle, keine lokale avitaminöse Magen-Darmerkrankung zustande kommt.

Die N-Bilanz, die vom 1. bis 7. Tage mit + 0,15 g deutlich positiv war, ging vom 8. bis 14. Tage auf + 0,06 g zurück und hatte vom 14. bis 16. Tage den negativen Wert von - 0,11 g erreicht. In der nun folgenden Periode, in der der Kot etwas weich geworden war, wurde die Bilanz mit - 0,25 g

(Fortsetzung.)

Ammoniak-N in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g. Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Periode in mg
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg	
0,3173	0,2954 5,3749	4,9823	4,7262 85,9950	241,1466	1,4040	80,3	80,5
0,3057		5,0730					
0,2906		4,6696		239,9187	1,5132	79,9	
0,2684		4,2809					
0,2924		4,6033					
0,2971		4,7023					
0,2958	4,7720	247,7757	1,4961	82,5			
0,2889	0,2976 5,1177				4,6330	5,0363 86,6072	249,567
0,2996		4,9796					
0,2742		4,6356					
0,2896		4,9935					
0,3108		5,2865					
0,2862		5,1891					
0,3339	5,5369	262,9725	1,4125	87,6			
0,3593	5,5636						
0,3633	0,3728 5,9148	5,7296	5,4354 86,2093	285,1424	1,5601	95,0	98,2
0,3124		4,5542					
0,3758		5,4599		315,1578	1,6162	105,0	
0,3830		5,6309					
0,4064		5,7156					
0,4099		5,3943					
0,4397	0,4358 7,3165	5,1342	4,8817 85,5478	394,0313	2,2004	131,3	134,2
0,4345		4,8528					
0,4554		4,9469					
0,4137		4,5930					

stärker negativ, erholte sich dann mit dem Verschwinden der Darmstörung auf + 0,02 g, stieg in der folgenden Periode vom 34. bis 40. Tage auf + 0,04 g, um von da an wieder kontinuierlich zu sinken, und schließlich die negativen Werte von - 0,6 g und - 0,5 g in der vorletzten bzw. letzten Periode zu erreichen.

Die N-Ausscheidung im Harn nahm fast kontinuierlich zu. Zuletzt betrug sie 1,5 - 1,0 g mehr als zu Beginn der Krankheit.

Die absoluten Harnstoffmengen wuchsen entsprechend der sich vermehrenden Gesamt-N-Menge allmählich an.

Die absoluten Ammoniakmengen gingen im allgemeinen etwas, aber wenig zurück; der erste und zweite Versuchstag muß unberücksichtigt bleiben wegen des vorausgegangenen Hungers. In der Periode der leichten Darmstörung hatte sich der vorher gesunkene Ammoniakwert zwar etwas gehoben, aber doch nur den absoluten Wert in der ersten Periode um etwa 0,02 g übertroffen. Eine stärkere Steigerung der absoluten Ammoniak-

mengen findet sich erst vom 55. Versuchstage an. Hier wird der Wert der ersten Periode um 0,06 g bzw. 0,12 g übertroffen.

Die Aminosäurewerte gehen ungefähr parallel mit den Ammoniakwerten.

Wenn man nun die prozentige Verteilung der N-haltigen Bestandteile im Rahmen des Gesamt-N betrachtet, dann findet man, daß der prozentige Anteil des Harnstoffs am Gesamt-N allmählich zunimmt, daß der prozentige Ammoniak- und Aminosäuregehalt ebenfalls ansteigen. Der Quotient Harnstoff Proz.: Ammoniak Proz. oder auch Harnstoff absolute Menge : Ammoniak absolute Menge blieb aber bei diesem Hunde bis zum 61. Tage unverändert bei etwa 14,5, erst in der prämortalen Periode sank er auf 11,75, d. h., daß nur in den allerletzten Tagen eine Acidosis bestand.

Aus alledem ergibt sich, daß im Verlauf der Krankheit der Gesamt-N-Umsatz bei qualitativ ungefähr normalem Ablauf allmählich gesteigert wird. Da ausweislich meiner anderen Versuche aber ebenfalls eine Vermehrung des Purinstickstoffs wahrscheinlich in den späteren Stadien der Krankheit auch bei diesem Hunde anzunehmen ist, so fällt ein Teil des vermehrten Gesamt-N natürlich auch auf diese N-Komponenten.

Siebenter Versuch.

Hund, etwa 1 Jahr alt, männlich, Anfangsgewicht 4400 g. Klinischer Verlauf der Avitaminose: Das Körpergewicht nahm von vornherein progressiv langsam ab. Magen-Darmstörungen zeigten sich nur vom 40. bis 45. Tage. Sie zeigten sich darin, daß der Stuhl, der sonst immer ganz hart war, in dieser Zeit fest-weich geworden war; dabei war er natürlich vollständig geformt. Ferner hatte der Hund in dieser Zeit einen etwas üblen Geruch aus dem Maule. Ich behandelte den Hund vom 40. Tage an bis zum Ende mit Bauchschutz. Am 45. Tage ließ ich ihn einen Tag hungern. Am 46. und 47. Tage habe ich darum den Harn nicht analysiert. Der Hund wurde während des ganzen Versuchs durch die Schlundsonde gefüttert. Der langhaarige Hund hatte etwa vom 15. Versuchstage an die Gewohnheit, seine Haare zu fressen. Ich habe ihm darauf einen Maulkorb angelegt, ohne es aber ganz verhindern zu können. Die Haare erschienen im harten Kot eingeschlossen. Ich habe daher vor der Kotanalyse den Kot von den Haaren befreit. Vom 15. bis 21. Tage hatte der Hund 0,2368 g Haare mit 24,32 mg N gefressen, vom 22. bis 29. Tage waren es 0,3242 g mit 24,16 mg N, vom 30. bis 37. Tage 0,708 g mit 74,17 mg N, vom 38. bis 43. Tage 0,745 g mit 78,5 mg N, vom 49. bis 56. Tage 1,434 g mit 151 mg N, vom 59. bis 63. Tage waren es 0,4324 g mit 45,56 mg N. Ob dieses Haarefressen des Hundes mit dem Verlangen nach mehr Nahrung überhaupt oder mit dem Verlangen nach Vitaminen zusammenhängt, oder ob es nur eine üble Angewohnheit war, will ich dahingestellt sein lassen. Man sieht ja auch, daß unterernährte Kinder alles mögliche unverdauliche Zeug essen, und dasselbe ist ja auch bei den großen Hungernöten in Rußland in den letzten Jahren bekannt geworden. Daß der Hund an sich kalorisch genügende Nahrung bekam, geht daraus hervor, daß er pro Kilogramm 80 Cal erhielt. Das ist also für einen normalen Hund eine überreichliche Kalorienmenge. Der Hund braucht durchschnittlich etwa 60 Cal pro Kilogramm Körpergewicht. Mit dem während des Versuchs fallenden Körpergewicht wurde sogar die Kalorienmenge relativ immer größer. Trotzdem fraß der Hund seine Haare. Bei anderen Hunden habe ich das nicht gesehen. Die Avitaminose dauerte

bei diesem Hunde 68 Tage. Mein sechster Hund, ein weibliches Tier, war am 67. Tage gestorben, der siebente Hund, ein männliches Tier, am 68. Tage.

Das Tier war zuletzt bis auf das Skelett abgemagert. Es hatte ungefähr 27 Proz. seines Anfangsgewichtes verloren. Lähmungen traten vom 57. Tage an allen Extremitäten auf. Auch Korneatrübungen hatten sich eingestellt. Zuletzt konnte er kaum mehr stehen. Nach der letzten Fütterung mit der Sonde starb er allmählich.

Bei der Sektion fand sich eine hochgradige Anämie aller Organe, Fett war eigentlich nirgends mehr zu sehen, in den Organen fanden sich makroskopisch bis auf eine Vermehrung des Nebennierenmarkes und eine Vergrößerung der Bauchlymphdrüsen, keine Veränderungen, an der Schleimhaut des Magen-Darmkanals war nichts Abnormes zu sehen, abgesehen natürlich von der Anämie. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems fanden sich schwere Degenerationen in den Hintersträngen, in den Pyramidenseitensträngen, geringe in den Vorderseitensträngen und in verschiedenem Umfange an den vorderen und hinteren Wurzeln des Rückenmarkes.

Daß dieser Hund unter genau denselben Erscheinungen wie der sechste Hund an Avitaminose gestorben ist, steht außer allem Zweifel.

Nahrung: 20 g Reis (1 g 11,78 mg N), 25 g Weizeneiweiß (1 g 141,5 mg N), 20 g Schweineschmalz, 1,5 g Osbornesches Salzgemisch, 350 ccm Aqua dest. Die gesamte Nahrung war 3 Stunden bei 120—125°C autoklavisiert worden. Gesamt-N der Nahrung 3,7731 g. Kaloriengehalt der Nahrung etwa 361 Cal, pro 1 kg Körpergewicht etwa 80 Cal.

Dieses Futter bekam der Hund vom 1. bis 64. Tage. Vom 65. bis 67. Tage erhielt der Hund 5 g Weizeneiweiß mehr, d. h. eine N-Zulage von 0,7075 g N. Der Gesamt-N betrug also jetzt 4,4806 g.

Bei der Betrachtung der Tabelle VII sieht man, daß, abgesehen von der Periode, in der die leichte Darmstörung auftrat, nämlich in der Zeit zwischen dem 38. und 43. Tage, die N-Resorption sich mit der fortschreitenden Avitaminose mehr und mehr verbesserte, denn der Kot-N sank pro Tag von 0,89 g zu Beginn des Versuchs auf 0,49 g in der Periode von 59. bis 63. Tage, bevor der Hund die vermehrte N-Zulage erhielt. Die N-Ausscheidung im Harn wurde aber schließlich doch etwas größer, als es dem Werte des mehr resorbierten N entsprach. Allerdings war diese Differenz mit 0,3 g bei diesem Tiere nicht so groß, wie bei dem sechsten Hunde, bei dem sie schließlich über 1,0 g betrug.

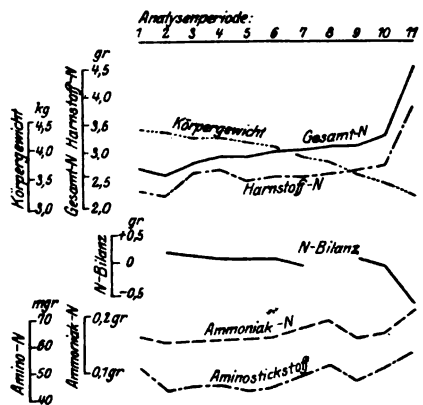


Abb. 5. Zu Versuch 7.

Im Prinzip aber führte auch bei diesem siebenten Hunde die Avitaminose schließlich zu einem N-Verlust des Körpers. Dementsprechend wurde die N-Bilanz, die zu Beginn des Versuches positiv (+ 0,1803) gewesen war, schließlich vom 57. Tage an negativ (— 0,0822), abgesehen von einer vorübergehenden Negativität zur Zeit der leichten Verdauungsstörung. Der Harn-

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harmenge in cem	Gesamt-N täglich im Harm in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
Bemerkungen							
28. X. 1923							
1	4400	260	2,5921	2,7575			
2	4400	360	2,6198				
3	4400	270	2,8346				
4	4400	420	2,9835				
5	4370	240	2,5464	2,6978	0,8950	3,7731	+ 0,1803
6	4390	320	2,8171				
7	4320	360	2,7300				
8	4340	280	2,4102	2,8633	0,7869	3,7731	+ 0,1229
9	4320	300	3,3035				
10	4300	250	2,8685				
11	4300	320	2,6408				
12	4270	340	3,5439				
13	4280	320	2,6540				
14	4260	300	2,6226				
15	4270	240	2,9723	2,9616	0,7503	3,7731	+ 0,0612
16	4250	350	2,8047				
17	4260	280	3,1225				
18	4250	300	2,1205				
19	4240	300	3,5977				
20	4230	320	3,2909				
21	4320	330	2,8226				
22	4220	300	3,2867	2,9186	0,7673	3,7731	+ 0,0872
23	4230	420	2,9538				
24	4200	280	2,6038				
25	4170	300	2,5576				
26	4180	300	3,1186				
27	4170	280	3,0440				
28	4150	280	2,8636				
29	4120	290	2,9212	3,0382	0,6679	3,7731	+ 0,0670
30	4170	280	3,3029				
31	4130	300	3,0681				
32	4100	310	3,0227				
33	4070	300	3,1438				
34	4050	280	2,9813				
35	4040	300	3,2194				
36	4030	300	2,8916	3,0422	0,7982	3,7731	- 0,0673
37	4000	260	2,9943				
38	3980	300	3,0177				
39	3980	340	3,0485				
40	3930	300	3,1522				
41	3900	320	3,2368				
42	3850	280	2,8479				
43	3830	300	2,9505				

VII.

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g. Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g. Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Periode in mg						
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg							
0,1735 0,1591 0,1692 0,1718	0,1684 6,1069	2,1244 2,1946 2,3866 2,4990	2,3012 83,4524	108,9420 99,8285	2,0902 1,7160	54,4 49,9	52,1						
0,1466 0,1602 0,1725		0,1598 5,3233		2,1583 2,4160	2,2872 85,2860	88,6968		1,6537	44,3				
0,1233 0,1765 0,1296 0,1421 0,2048 0,1845 0,1513				0,1589 5,5495		2,8124 2,4305 2,2692 3,0176		2,6324 85,2130		87,9357 93,0861 94,4465	1,7107 1,5082 1,5271	45,0	
0,1614 0,1422 0,1649 0,1129 0,2078 0,1932 0,1135						0,1594 5,3822				2,5217 2,4032 2,6752	2,5334 85,4003		126,5275 121,7295
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959		3,0789 2,7908				2,9349 85,2103			103,8180			1,5071
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959	2,7999 2,5301 2,2073 2,1827		2,4874 85,2257				92,7575 122,2312	1,5183 1,5062			46,3
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959	2,6521 2,5899 2,4287 2,5085				90,4238	1,4673	45,2		43,9	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959		2,7998 2,5793 2,5754			2,5940 85,3795	138,6147	1,5251		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959					2,6773 2,4619 2,8121 2,3671 2,4752	131,2323			1,4412	43,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503	149,0625 152,3969				1,6170 1,6867	49,6 50,7		50,2
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585			0,1604 5,4959		2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503			149,0625 152,3969		1,6170 1,6867	49,6 50,7	50,2	
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585				0,1604 5,4959	2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503				149,0625 152,3969	1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585	0,1604 5,4959				2,5456 2,5912 2,6849 2,7527 2,4163 2,4503		149,0625 152,3969			1,6170 1,6867	49,6 50,7		
0,1704 0,1589 0,1421 0,1431 0,1807 0,1618 0,1648 0,1585		0,1604 5,4959			2,5456 2,591								

Tabelle VII.

Ver- suchstag	Körper- gewicht in g	Tägliche Harnmenge in ccm	Gesamt-N täglich im Harn in g	Gesamt-N pro Tag durch- schnittlich in g	Kot-N pro Tag durch- schnittlich in g	Nahrungs-N täglich in g	N-Bilanz in g
Bemerkungen							
44	3810	340	2,9247	3,1393			1 Tag Hunger Bauchschutz
45	3820	300	3,3539				
46				3,1414	0,5714	3,7731	+ 0,0603
47							
48							
49	3690	280	3,0676				
50	3680	300	2,9126				
51	3640	280	3,1460				
52	3620	300	3,1438				
53	3620	320	3,4430				
54	3600	300	3,0681	3,3601	0,4952	3,7731	- 0,0822
55	3590	300	3,2279				
56	3570	280	3,1225				
57	3530	280	2,7524				
58	3500	380	3,2166				
59	3490	300	3,2867				
60	3480	300	3,5305				
61	3450	300	3,8499				
62	3410	320	3,3455	4,5952	0,6571	4,4806	- 0,7717
63	3360	350	3,5389				
64	3300	300	3,2783	4,5952	0,6571	4,4806	- 0,7717
65	3250	320	4,6805				
66	3220	320	4,5100				
67	3200	300	4,0348				Gestorben
68							

stoffgehalt des Urins vermehrte sich absolut und prozentig, das Ammoniak zeigte das gleiche Verhalten, die Aminosäuren vermehrten sich in ihren absoluten Werten, der Prozentgehalt zeigte keine nennenswerten Veränderungen.

Der Quotient Harnstoff:Ammoniak (prozentige und absolute Werte) blieb mit etwa 15,2 bzw. 14,3 am Anfang und 15,6 vom 57. bis 60. Tage unverändert. In der Zeit vom 61. bis 63. Tage fiel er dann auf 13,9 bzw. 14,0.

Bei diesem Hunde bestand also erst vom 61. Tage an eine leichte Acidosis. In der Zeit der Darmstörung betrug der Quotient etwa 13,2. Hier war also infolge der Resorptionsstörung die Acidosis stärker als im Endstadium der Avitaminose bei guter Resorption.

Es wurde bei diesem Hunde nun außerdem der Kaloriengehalt des Kotes in folgenden Perioden mit folgendem Ergebnis untersucht.

Vom 5. bis 7. Tage betrug der tägliche Gehalt des Kotes an großen Kalorien: 47,6264.

(Fortsetzung.)

Ammoniak-N täglich in g	Ammoniak-N pro Tag durch- schnittlich in g, Proz. des Gesamt-N	Harnstoff-N täglich in g	Harnstoff-N pro Tag durch- schnittlich in g, Proz. des Gesamt-N	Amino-N Gesamt- menge in einer Analysen- periode in mg	Amino-N		Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Periode in mg
					Proz. des Gesamt-N in einer Analysen- periode	Durch- schnittliche Tagesmenge in einer Analysen- periode in mg	
0,1858 0,2102	0,1980 6,3071	2,4327 2,8330	2,6328 83,8658	106,0644	1,6890	53,0	53,0
0,1690 0,1884 0,1626 0,1649 0,1817 0,1427 0,1633 0,1426	0,1644 5,2333	2,6318 2,5199 2,7224 2,7098 2,9813 2,6666 2,7908 2,6888	2,7139 86,4232	46,2922 91,8362 145,1614	1,5090 1,5158 1,5035	46,2 45,9 48,3	47,0
0,1573 0,1836 0,1780 0,2070 0,2353 0,2185 0,2227	0,1729 5,6041 0,2209 6,1942	2,3730 2,8290 2,8901 3,0629 3,3372 2,8833 3,0388	2,6973 87,4270 3,0806 86,3835	139,9499 140,3028 117,3495	1,5374 1,3982 1,6308	46,6 46,7 58,6	52,1
0,2057		2,7968		121,1504	1,7772	60,5	
0,2479 0,2389	0,2434 5,2968	4,1310 3,9901	4,0606 88,3661	117,9508	1,2834	58,5	58,9
0,2275		3,5451		57,5228	1,4256	57,5	57,5

Vom 49. bis 56. Tage fanden sich im täglichen Kot 35,1362 große Kalorien.

Vom 57. bis 63. Tage fanden sich im täglichen Kot 27,0354 große Kalorien.

Aus dieser Analyse geht hervor, daß mit der fortschreitenden Avitaminose auch die Fett- und Kohlehydratesorption im Darne immer vollständiger wurde, wie sich ja auch die N-Resorption mehr und mehr hob. Auf Eiweiß berechnet, wurden im Darm vom 57. bis 63. Tage etwa 2,48 g mehr resorbiert, als vom 5. bis 7. Tage. Das dadurch bedingte Kalorien-defizit im Kot beträgt etwa 10 Cal. In Wirklichkeit hat also der Kot 20 Cal eingebüßt. Es müssen daher an Fett und Kohlehydrat 10 Cal vom 57. bis 63. Tage mehr resorbiert worden sein, als in der Zeit vom 5. bis 7. Tage.

Es hat nach allen diesen Erfahrungen der Körper bei der Avitaminose das Bestreben, aus der Nahrung im Darm so viel Nährmittel für die Zellen herauszuholen, als irgend geht. Da lag der Gedanke nahe, auch noch einmal bei dem siebenten Hunde zu prüfen, wieweit in dem allerletzten Stadium,

als die Vollkommenheit der Nahrungsausnutzung durch Resorption eben einen Höhepunkt in der Periode vom 57. bis 63. Versuchstage erreicht hatte, nämlich vom 64. Tage an, eine erhöhte Eiweißzulage wirkt. Ich wollte mit dieser erhöhten Eiweißzulage dem natürlichen Streben des Körpers nach mehr Nahrung, das er in der sich ständig bessernden Nahrungsausnutzung zeigt, entgegenkommen. Ich legte 5 g Weizeneiweiß vom 64. Tage an zu. Ich konnte zwar nur 3 Tage noch den Hund beobachten, da er am 68. Tage starb, aber die Befunde in diesen 3 Tagen sind doch so klar, daß man aus ihnen wichtige Schlüsse ziehen kann.

Die N-Resorption hob sich beträchtlich.

Tägliche N-Resorption vom 57. bis 63. Tage . . .	3,2779 g N
Tägliche Resorption vom 64. bis 67. Tage . . .	3,8235 g N
Differenz	+ 0,5456 g N
N-Gehalt in 5 g Eiweiß	0,7075 g N

Man ersieht aus dieser Rechnung, daß über zwei Drittel des im Eiweißplus zugelegten N auch resorbiert worden sind. In der Periode vom 57. bis 63. Tage wurden 86,87 Proz. des Nahrungs-N resorbiert, in der Periode vom 64. bis 67. Tage dagegen 85,31 Proz. Die N-Resorption hatte sich also nur sehr wenig bei der größeren Eiweißmenge und dem verschlechterten Allgemeinzustande verschlechtert.

Trotz der absolut bedeutend vermehrten N-Resorption in der letzten Periode, die die Größe der negativen N-Bilanz in der vorausgehenden Periode um über das Sechsfache übertraf, wurde die N-Bilanz so stark negativ, wie sie nie gewesen war. Sie wurde fast zehnmal so stark negativ als in der vorausgehenden Periode.

Mit der Vermehrung des Gesamt-N im Harn wuchs auch jetzt der Harnstoffgehalt. Aber der Quotient Harnstoff: Ammoniak, der in der vorausgehenden Periode noch normal war, sank von 15,6 auf 14 in der letzten Periode vom 64. bis 67. Tage. Hier war also eine Acidosis bei dem verstärkten Eiweißzerfall aufgetreten.

Die Ursache dieses Eiweißzerfalls war also nicht der Mangel an Nahrungs-eiweiß, die relative Verminderung der N-Resorption bei stark erhöhtem absoluten Werte dieser Resorption konnte also nur zum allerkleinsten Teile vielleicht etwas zu der Änderung im Stickstoffstoffwechsel beitragen; denn man könnte ja denken, daß bei noch größerer N-Resorption eine etwas weitergehende Kompensation des Eiweißzerfalls aufgetreten wäre. Da aber doch die absolute Größe des Eiweißzerfalls trotz der absolut recht großen N-Resorption maßlos gesteigert war, so folgt daraus, daß die in der Avitaminose begründet liegende Zersetzung des Körpereiwisses nicht aufgehalten werden kann durch eine noch so große Eiweißzufuhr mit der Nahrung. Im Gegenteil, es scheint fast so, als ob die Avitaminose zu einem Zustand führe, bei dem der Protoplasmazerfall durch eine vermehrte Eiweißzufuhr, die ihn verhindern soll, gesteigert würde. Je mehr Eiweiß der Körper erhält, um so größer wird natürlich der N-Umsatz; es kommt zu keinem N-Ansatz mehr; der N-Umsatz wächst nicht proportional der gesteigerten Eiweißzufuhr, sondern er wächst in sehr viel höherem Grade an.

Der endliche Protoplasmazerfall bei der Avitaminose kann also durch nichts aufgehalten werden.

Noch ein Wort zur Acidosis! Im früheren Stadium der Avitaminose hängt eine auftretende Acidosis, wie aus meinem früheren Versuche hervorgeht, immer mit einer Resorptionsstörung zusammen. Hier kann sie auch

durch Hebung der Resorption, sei es durch kurative Einwirkung auf den Darm, sei es durch vermehrte Eiweißzufuhr oder besser gesagt überhaupt durch gesteigerte Nahrungszufuhr zum Verschwinden gebracht werden. In dem letzten Stadium ist das aber nicht mehr möglich. Hier ist die Acidosis, wie ich zeigte, die Folge des stark gesteigerten Zerfalls der Körpersubstanz, der nicht mehr durch Nahrungszufuhr aufzuhalten ist.

Schlußbetrachtungen.

Wenn man die Stoffwechseluntersuchungen an den sieben Hunden, die ich im vorstehenden mitgeteilt habe, übersieht, dann kommt man zu folgenden Ergebnissen.

Das erste Ergebnis meiner vielfältigen Untersuchungen am Stoffwechsel ist das, daß schon eine verhältnismäßig geringfügige Resorptionsstörung, die ich an der Größe der N-Resorption maß, zu einer Verminderung der Harnstoffbildung zugunsten einer Vermehrung der Aminosäuren und des Ammoniaks im Harn führt. Der Quotient Harnstoff: Ammoniak, der in der Norm beim Hunde, einerlei, ob man die prozentigen Mengen dieser Substanzen im Rahmen des gesamten Harn-N, oder ob man ihre absoluten Mengen im Harn der Berechnung zugrunde legt, etwa 15 beträgt, sinkt je nach der Größe der Ammoniakvermehrung und Harnstoffverminderung.

Jede Besserung der Resorption, die erzielt werden kann, mag man nun eine primäre Beeinflussung des resorbierenden Epithels vornehmen oder durch gesteigerte Eiweißzufuhr die Eiweißresorption heben — was zum Ziele führt, ist verschieden je nach der Erkrankung —, bringt sofort den Quotienten wieder auf die normale Höhe.

Daß bei diesen Versuchen an sich sehr geringfügige Resorptionsstörungen im Darm sofort zu konsekutiven Erscheinungen des Stoffwechsels bei Unterernährung, oder sagen wir kurz, zum Hungerstoffwechsel führen, beruht darauf, daß das Futter der Tiere bei den Versuchen ja so bemessen war, daß es, auf das Körpergewicht bei Versuchsanfang berechnet, im allgemeinen gerade kalorisch genügte. Daß für das Verschwinden der Acidosis bei forciertem Eiweißfüttern in diesen Fällen die N-haltigen Komplexe der Nahrung, auf deren gesteigerte Resorption sich meine Beobachtungen allein beziehen, verantwortlich zu machen wäre, ist damit nicht gesagt, da ja bekanntlich auch die nicht N-haltigen Komplexe des Eiweißmoleküls genügen können, um die Acidosis zum Verschwinden zu bringen. Ob die Acidosis überhaupt in diesem Falle direkt etwas mit dem Zerfall des Körpereiwisses zu tun hat, ist überaus fraglich.

Die zur Acidosis führende Resorptionsstörung kann zu allen Zeiten der Avitaminose auftreten. Diese Resorptionsstörung ist entweder die Folge einer sich progressiv verschlimmernden Magen-Darmstörung, der oft dann skorbutische Blutungen zugrunde liegen; manchmal

aber ist die Resorptionsstörung nur ganz vorübergehender Natur. Sie hat dann offenbar mit der Avitaminose nichts direkt zu tun, sondern kann z. B. durch eintägiges Fasten geheilt werden.

Resorptionsstörungen der ersten Art bieten mein erster und zweiter Hund in typischer Weise dar. Resorptionsstörungen der zweiten Art sehen wir bei meinem dritten Hunde, in ganz besonders leichtem Grade aber bei meinem sechsten und siebenten Hunde. Es kann ja auch nicht wundernehmen, daß bei so lange dauernden Stoffwechselversuchen, wie ich sie ausführte, einmal Tage auftreten, an denen durch unbekannte Vorgänge im Darm sich die Resorption vorübergehend etwas ungünstiger stellt. Beweisend für den avitaminösen Charakter der Resorptionsstörung ist es, wenn die Resorptionsstörung sich mit der fortschreitenden Avitaminose *progressiv* verschlechtert. Wenn aber nach einer vorausgegangenen kurzfristigen Resorptionsstörung in den darauf folgenden Zeiten der Avitaminose die Resorption wieder völlig normal verläuft, ja sogar, wie es bei meinem sechsten und siebenten Hunde der Fall war, besser wird, als zu Beginn des Versuches, dann kann eine solche flüchtige Resorptionsstörung nur eine zufällige Erscheinung sein, die nichts mit der Avitaminose direkt zu tun hat.

Wenn nunmehr im Anschluß an solche Perioden tadelloser Resorption in den allerletzten Lebenstagen der Tiere, also kurz vor dem völligen Zusammenbruch des Körpers, sich eine Resorptionsstörung einstellt, dann muß diese allerdings die Folge der Avitaminose sein. Aber diese avitaminöse Resorptionsstörung dauert dann höchstens eine Woche. Sie umfaßt das Terminalstadium oder prämortale Stadium der Krankheit, wie ich es genannt habe.

Diejenigen avitaminösen Störungen aber, die zum Zusammenbruch des Körpers führen, können wir nur in den Perioden beobachten, die vor dem prämortalen Stadium liegen. Die Erscheinungen im prämortalen Stadium sind nur das Resultat, zu dem die gesamten vorausgegangenen Stoffwechselstörungen während vieler Wochen, ja Monaten allmählich hingeführt haben.

Diese avitaminösen Störungen im N-Stoffwechsel beruhen nun darauf, daß die N-Ausscheidung im Harn allmählich wächst und die N-Bilanz infolgedessen der Negativität mehr oder minder rasch zustrebt.

Die Nahrung, die zu Versuchsbeginn den N- und Kalorienbedarf des Körpers vollständig deckte, wird bei sich verminderndem Körpergewicht insuffizient. Es befindet sich also der avitaminöse Körper in einem Zustande, in dem bei gleichbleibender Nahrungszufuhr, auf das Kilo Körpergewicht berechnet, der N- und Kaloriengehalt der Nahrung immer größer wird. Trotzdem genügt auch diese relative Vermehrung der Nahrung nicht mehr dem Bedarf des Körpers. Das

zeigt sich daraus, daß der Körper die immer gleiche Nahrung mit der fortschreitenden Avitaminose und bei fortschreitender Körpergewichtsabnahme immer vollkommener bei der Resorption ausnutzt.

Dieses Bestreben des Körpers nach mehr Nahrung kann man unterstützen, wenn man von vornherein den Kalorien- und Eiweißgehalt der Nahrung so hoch bemißt, daß er, auf das Körpergewicht berechnet, überreichlich ist. Das habe ich bei meinem sechsten und siebenten Hunde getan und auch *Hirabayashi* (2) tat bei seinem Hunde das gleiche.

Der *Hirabayashi*sche Hund zeigte bis zum Auftreten seiner langwierigen avitaminösen Magen-Darmerkrankung eine positive N-Bilanz, die sogar auch zeitweise bei einer leichten Besserung der Verdauungsstörung neben Intervallen einer negativen Bilanz auftrat.

Meine Versuche (sechster und siebenter Hund) aber zeigen, daß eine reichliche Ernährung während der ganzen Krankheit und geradezu eine forcierte Ernährung bei entsprechend gesteigerter Resorption in einem Spätstadium der Avitaminose die negative N-Bilanz nicht mehr nennenswert beeinflussen kann (56. bis 66. Versuchstag bei meinem siebenten Hunde, der am 68. Versuchstage starb).

Alles das beweist, daß die Avitaminose zu einem gesteigerten Eiweißumsatz führt, bei dem es früher oder später zu einer Einschmelzung von Körpereweiß kommt. Da auch vermehrte Nahrungszufuhr und -resorption mit besonderer Berücksichtigung des Eiweißes diesen Protoplasmazerfall nicht aufzuhalten vermag — höchstens kann er in früheren Stadien der Krankheit dadurch etwas verzögert werden —, so folgt daraus, daß dieser gesteigerte Eiweißumsatz nichts mit Hunger infolge mangelhafter Resorption zu tun hat, sondern daß die Ursache eine primäre avitaminöse Störung sein muß.

Diese avitaminöse Zellstörung führt dazu, daß neben dem vollständigen Umsatz des Nahrungseiweißes auch Zelleiweiß in fortschreitendem Maße abgebaut wird. Dieser ganze Umsatz verläuft aber qualitativ in ungefähr normaler Weise. Denn die wichtigsten Endprodukte des Eiweißstoffwechsels im Harn sind darin in ungefähr normalem Prozentverhältnis sämtlich enthalten. Alle N-Komponenten sind dabei natürlich entsprechend dem gesteigerten Eiweißumsatze vermehrt. Auch die Purinkörper, besonders die Harnsäure und das Allantoin, nehmen an dieser Störung teil. Mag auch die Purinvermehrung exzessiver sein, so beweist das nur einen starken Kernzerfall, aber es beweist nichts gegen die Auffassung, daß auch der Purinstoffwechsel qualitativ ungefähr normal verläuft. Nur im Stadium des Zusammenbruchs kurz vor dem Tode ist eine verminderte Harnstoffbildung bei gesteigerter Ammoniak- und Aminosäureausfuhr nachweisbar.

So stellen wir fest, daß der gesteigerte Eiweißumsatz qualitativ normal vor sich geht, und daß darum auch die Oxydation am Eiweiß entsprechend der Vergrößerung des Umsatzes erhöht sein muß.

Wir erkennen also am Eiweißstoffwechsel eine Steigerung der Dissimilation. Da aber auf der anderen Seite meine Versuche zeigen, daß Eiweißzufuhr bei der Avitaminose schließlich den Zelleiweißzerfall, und zwar den Zerfall der N-haltigen Komplexe des Zelleiweißes nicht aufzuhalten vermag, so geht daraus hervor, daß bei der Avitaminose die Zelle die Fähigkeit verloren hat, das Nahrungseiweiß zum Ersatz des zerfallenden Zelleiweißes in sich einzufügen, d. h. zu assimilieren.

An die Seite der gesteigerten Dissimilation tritt also eine herabgesetzte Assimilationsfähigkeit der Zellen für Eiweiß. Man hat den Eindruck, als ob die avitaminöse Zelle das Nahrungseiweiß zwar gierig in sich aufnehme, es aber sofort wieder verbrenne.

Bemerkenswert ist aber bei allen diesen Störungen am N-Stoffwechsel, daß sie vielfach erst in den späteren Stadien der Avitaminose zur Anschauung kommen.

Die starken Körpergewichtsabnahmen, die bereits aufgetreten sein können, noch ehe der gesteigerte Eiweißumsatz nachweisbar ist, und die Beobachtungen von Asada (9) am Fettstoffwechsel zeigen, daß zunächst das Fett in gesteigertem Maße verbrannt wird. Es kann also zunächst das Fett das Zelleiweiß vor der Zersetzung schützen. In dem Sinne sprechen ja auch die Beobachtungen über den Einfluß forcierter Ernährung auf den Ablauf der Avitaminose.

Man muß sich bei der Beurteilung der ganzen Verhältnisse darüber klar sein, daß es sich bei der Avitaminose um eine progressiv fortschreitende Störung handelt. Dann werden Stoffwechselleistungen in früheren Stadien der Krankheit noch möglich sein, die in späteren Stadien nicht mehr möglich sind. So kann auch in früheren Stadien durch andere Nährstoffe ein Eiweißschutz noch zusammenkommen, der in späteren Stadien nicht mehr möglich ist.

Endlich haben meine Versuche den experimentellen Beweis dafür erbracht, daß die Geschwindigkeit der Ausbildung der avitaminösen Erscheinungen in eminenter Weise abhängig ist von dem Lebensalter der Tiere. Mein 10 Jahre alter Hund Nr. 3 war am 256. Tage noch nicht seiner Avitaminose erlegen, während mein 3 Monate alter Hund Nr. 4 nach 14 Tagen bereits an der Krankheit gestorben war.

Meine anderen Hunde fügen sich in diese Reihe ungezwungen ein. Ich stelle hier in einer Tabelle die Lebensdauer verschieden alter Hunde zusammen, die die Tiere nach Beginn der avitaminösen Fütterung gezeigt haben und deren N-Stoffwechsel in unserem Laboratorium genau untersucht wurde.

	Alter etwa Jahre	Lebensdauer Tage
Hund 4 (<i>Yoshiue</i>) . .	1 $\frac{1}{4}$	14
" 1 " . .	1 $\frac{1}{2}$	28
" 5 " . .	1 $\frac{1}{2}$	46
" 2 " . .	1 $\frac{1}{2}$	49
" 6 " . .	1	67
" 7 " . .	1	68
" (<i>Hirabayashi</i>) . .	2—3	102
" (<i>Tsuji</i>)	2—3	108
" 3 (<i>Yoshiue</i>) . .	10	etwa 130 *)

*) Bei dieser Berechnung ist nur die dauernd vitaminfreie Periode vom 126. Versuchstage an berücksichtigt. Die Lebensdauer wäre also wahrscheinlich sehr viel länger als 130 Tage gewesen.

Zum Schlusse sei nur noch eine versuchstechnische Bemerkung gestattet. Wenn es mir gelungen ist, Versuche durchzuführen, bei denen ich, wie in dem sechsten und siebenten Versuche einer heranziehenden Verdauungsstörung, die das Ergebnis des ganzen Versuches gefährdete, Herr wurde, so glaube ich, das vor allem auf die überaus sorgsame Pflege, die ich meinen Hunden angedeihen ließ, zurückführen zu müssen. Die Tiere wurden nicht nur in einem gleichmäßig temperierten warmen Zimmer gehalten, die Nahrung wurde nicht nur aufs sorgfältigste zubereitet, sondern ich habe auch obendrein den Tieren, wenn eine solche Störung im Anzug war, noch mit Tuchverbänden den Leib warm gehalten. Das alles sind gewiß Kleinigkeiten, aber man muß sie beachten, wenn man bei solchen Versuchen ein beweiskräftiges Resultat erreichen will.

Versuchstechnik.

Der Harn wurde in einem Gefäße aufgefangen, das zur Vermeidung der Harnfäulnis 1,5 ccm Essigsäure enthielt. Der Käfig wurde täglich nach dem Abspülen des Bodens und der Wände mit destilliertem Wasser, das dem Harn zugefügt wurde, mit reinen Tüchern vollständig trocken geputzt.

Die Gesamt-N-Bestimmung wurde täglich nach *Kjeldahl* gemacht, das Ammoniak wurde täglich nach *Krüger, Reich* und *Schittenhelm*, der Harnstoff täglich nach *Marschall*, unter Verwendung von japanischen Sojabohnen, die Aminosäuren in zwei- oder dreitägigen Perioden nach *van Slyke*, das Kreatinin nach der kolorimetrischen Methode von *Autenrieth* bestimmt, von der ich aber glaube, daß sie nur approximative Werte angibt. Hinsichtlich der Einzelheiten der Methodik verweise ich auf das Buch von *Brugsch* und *Schittenhelm*, „Technik der speziellen klinischen Untersuchungsmethoden“. Alle Analysen wurden doppelt ausgeführt, die Aminosäurebestimmungen wurden manchmal vierfach ausgeführt. Der Harn wurde immer auf Eiweiß- und Zuckerfreiheit kontrolliert. Nur die Ergebnisse gut übereinstimmender Analysen wurden in die Tabellen aufgenommen. Der Kot wurde immer mit genau der gleichen Karminmenge von 0,5 g abgegrenzt. Das ist auch bei der Kalorienbestimmung des Kotes zu berücksichtigen.

Zu den Tabellen bemerke ich noch, daß ich die Harnsäure- und Allantoinwerte, die sich in der *Adachi*schen Arbeit (3) über meine Hunde 1 bis 3 befinden, und die dort auf das Körpergewicht berechnet sind, auf die absoluten täglichen Mengen in einer Analysenperiode umgerechnet habe.

Literatur.

- 1) *Tsuji*, diese Zeitschr. 129, 1922. — 2) *Hirabayashi*, ebendasselbst 145, 1924. — 3) *Adachi*, ebendasselbst 143, 1923. — 4) *Funk*, Die Vitamine, 2. Aufl., 1922. — 5) *R. Berg*, ebendasselbst 1922. — 6) Veröffentlichungen japanischer Vitaminarbeiten in der Japanischen med. Wochenschr. Nr. 1390 bis 1496, 1921/23 und in den Ber. d. pathol. Ges. in Tokio. — 7) *Brugsch* und *Schüttenhelm*, Technik der speziellen klinischen Untersuchungsmethode 1914. — 8) *Asada*, Fettstoffwechsel bei Avitaminose. I. bis V. Mitteil. Ebendasselbst 1923. — 9) *A. Bickel*, Das Wesen der Avitaminose, ebendasselbst 146, 1924. — 10) *Cathcart*, ebendasselbst 6, 1907.
-

Über das Wesen der antipeptischen Wirkung des Blutserums.

Von

L. Lorber.

(Aus dem Zentrallaboratorium der Krankenhäuser der jüdischen Gemeinde in Budapest.)

(Eingegangen am 25. März 1924.)

Unsere Kenntnisse von dem Wesen des normalen Antipepsins des Blutserums sind bisher sehr dürftig. Die bisherigen Angaben widersprechen einander oder sind wegen der nicht ganz zweckmäßigen Methodik unzuverlässig.

Als erster beschäftigte sich *Jacoby*¹⁾ systematisch mit dem Normalantipepsin und bestimmte die antipeptische Wirkung der Sera verschiedener Tiere. Einige Autoren behaupten auf Grund ihrer Versuche, daß das Serum seine antipeptische Fähigkeit nach Zusatz von Säure verliert [*Cantacusène*²⁾], während nach anderen das nicht zutrifft [*Hamburger*³⁾]. Bezüglich der Chemie des Antipepsins sagt *Hensel*⁴⁾, daß es sich um eine thermostabile, nicht eiweißartige Substanz handelt. Dieselbe Ansicht äußern *Blum* und *Fuld*⁵⁾ und fügen noch hinzu, daß Antipepsin mit Alkohol fällbar ist und durch tierische Membranen diffundiert. Einige Autoren sehen auch den Grund der Resistenz des Magens gegen die verdauende Tätigkeit des Pepsins in der Anwesenheit des Antipepsins in der Magenschleimhaut bzw. im Blute. In Verbindung mit dieser Frage beschäftigte man sich viel mit dem Antipepsin, aber auch diese Arbeiten haben unsere Kenntnisse nicht gefördert.

Der Zweck meiner Versuche war, erstens mit einer einheitlichen Methodik die bisherigen, einander widersprechenden Untersuchungen zu überprüfen und zweitens das Wesen der antipeptischen Wirkung des Serums kennenzulernen.

Bei meinen Untersuchungen habe ich größtenteils Menschenblutserum verwendet. Die benutzte Pepsinlösung war eine 1proz. Lösung des „Pepsinum germanicum“ in destilliertem Wasser. Bei meinen Versuchen benutzte ich mehrere Pepsinlösungen, welche zwischen den einzelnen

1) Diese Zeitschr. 2, 247.

2) Société Biol. 65, 273.

3) Journ. of exper. Medicin 14, 535.

4) Biochem. Zentralbl. 1, 864.

5) Zeitschr. f. klin. Med. 58, 505.

Untersuchungen im Eisschrank aufbewahrt wurden. Es war nicht nötig, den Titer der einzelnen Pepsinlösungen zu bestimmen, da die Versuchsergebnisse immer aus vergleichbaren Werten derselben Untersuchungsreihe gezogen wurden.

Zur Messung der Aktivität des Pepsins benutzte ich eine Eiweißsuspension. Die Herstellung der Eiweißsuspension geschah folgendermaßen: 10 ccm Menschenblutserum wurden mit destilliertem Wasser auf das Zehnfache verdünnt, 10 Tropfen einer 20proz. Sulfosalicylsäurelösung unter ständigem Rühren dazugegeben, worauf die Eiweißlösung trübe wurde. Jetzt wurde die Lösung nach gründlichem Schütteln in einem 85°-Wasserbad erwärmt. Aus dem so behandelten Serum fällt das Eiweiß in feinen Flocken aus. Die Suspension wurde warm filtriert und das auf dem Filter sich befindende koagulierte Eiweiß mit 50 ccm n/5 Salzsäure im Porzellanmörser gut zerrieben; so gewann ich eine schöne, weiße, gleichmäßige Suspension. Nach längerem Stehen setzt sich die Suspension ein wenig, aber nach Schütteln vor der Benutzung wird sie wieder ganz gleichmäßig.

Wenn ich zu dieser Eiweißsuspension Pepsin gab und diese Mischung in einem 38°-Wasserbad hielt, hellte sich die trübe Suspension nach einer Weile auf, während die Kontrollröhren, die kein Pepsin enthielten, unverändert trübe blieben.

Ich habe zuerst die Wirkung verschiedener Säuren auf die antipeptische Fähigkeit des Serums beobachtet. Bei den Untersuchungen benutzte ich Salzsäure, Borsäure und Milchsäure.

Tabelle I.

A						B					
	1.	2.	3.	4.	C		1.	2.	3.	4.	C
Pepsinlösung . ccm	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Pepsinlösung . ccm	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Serum	0,05	0,1	0,2	0,3	0	n/5 HCl	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Aqua dest.	bis auf gleiche Volumen					Serum	0,05	0,1	0,2	0,3	0
Eiweißsusp.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	Eiweißsusp.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
n/5 HCl	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	Aqua dest.	bis auf gleiche Volumen				

Nach 18stündigem Stehen im Thermostaten, in „B“ (wo die vor dem Serum hinzugefügte HCl die antipeptische Wirkung verhinderte), vollständige Lösung mit Ausnahme der vierten Röhre, wo schon viel Antipepsin vorhanden war und daher fast komplette Hemmung eingetreten ist. In „A“ vollständige Hemmung mit Ausnahme der „C“-Röhre, wo komplette Lösung erfolgt ist. Dasselbe Resultat ergaben auch die Milchsäure und Borsäure. Bei den Versuchen mit Borsäure ergab sich, daß zum Aufheben der antipeptischen Wirkung eine größere Konzentration nötig war als die der Salzsäure, da die Borsäure zu den schwächeren Säuren gehört.

Das Verhalten der antipeptischen Wirkung des Serums gegen Hitze untersuchte ich auf die Weise, daß ich zum Serum die gleiche Menge einer n/10 KJ-Lösung gab, wodurch der Koagulationsgrad des Serums erhöht wurde. Das so behandelte Serum konnte bis auf 88° C erwärmt werden, ohne zu koagulieren. Ich erwärmte einzelne Teile eines mit KJ versehenen Serums auf 70 bis 80°, bis 84° und 88° C. Nach der Abkühlung wurden die einzelnen Serumteile mit Pepsin und Eiweiß gemischt und eine halbe Stunde lang im 38°-Wasserbade gehalten. Da sich kein Teil auflöste, so können wir daraus schließen, daß das Serum seine antipeptische

Wirkung nicht einmal bei 88° verliert. Bei demselben Versuch war in der Kontrollröhre — Pepsin + KJ + Eiweiß — eine vollständige Lösung zu beobachten.

Später prüfte ich das Wesen der antipeptischen Wirkung. Zuerst wollte ich entscheiden, an welchen Teil des Serums die antipeptische Wirkung gebunden ist, ob an die Albumin- oder an die Globulinfraction. Die Trennung geschah durch Dialysieren gegen destilliertes Wasser. Die ausgefallte Globulinfraction habe ich zum Teil in destilliertem Wasser suspendiert, zum Teil in 0,9proz. Kochsalzlösung aufgelöst. Die Albumine habe ich unverändert benutzt. Bei den Versuchen benutzte ich die Kombination der einzelnen Eiweißfraktionen (z. B. Albuminlösung + wässrige Globulinsuspension; Globulinlösung + Albuminlösung) und zu dieser Mischung gab ich die Pepsinlösung und die HCl enthaltende Eiweißlösung. Nach ½stündigem Stehen im Wasserbade trat überall Lösung ein.

Aus dem Versuche ersehen wir, daß die antipeptische Wirkung nicht an die Eiweißfraktionen des Serums gebunden ist. Die Versuche zeigen auch zugleich, daß das Serum durch Dialyse seine antipeptische Wirkung verliert, also muß das Antipepsin unter den dialysablen Stoffen gesucht werden. Bei den dialysablen Stoffen mußte ich zuerst an das Alkali des Serums denken. Diese Voraussetzung schien bestätigt zu werden durch die Tatsache, daß das Serum schwach alkalisch ist, daß die antipeptische Wirkung durch Säuren vernichtet wird und endlich, daß die antipeptische Wirkung ebenso irreversibel ist wie die Pepsin-Alkalibindung.

Zuerst prüfte ich die Wirkung des Alkalis auf das Pepsin, und zwar so, daß ich die Menge des NaHCO_3 zu bestimmen suchte, welche zur Inaktivierung der von mir benutzten Pepsinmenge notwendig war. Ich fand, daß Hemmung bei Benutzung von $n/80$ NaHCO_3 sich einstellte.

Ob der NaHCO_3 -Gehalt des Serums antipeptische Wirkung ausübt, suchte ich folgendermaßen zu entscheiden:

1. Nach Dialysieren des Serums gegen destilliertes Wasser fügte ich so viel NaHCO_3 zu, daß seine Konzentration ungefähr $n/80$ war.
2. Das Serum unterwarf ich einer Kompensationsdialyse so, daß zur äußeren Flüssigkeit NaHCO_3 -Lösung benutzt wurde.
3. Nach Ausfällung des Serumeiweiß prüfte ich die antipeptische Wirkung des Restes.

Zu 1. Ich habe das Serum gegen destilliertes Wasser so lange dialysiert, bis die äußere Flüssigkeit bei Zusatz von AgNO_3 keine Trübung mehr gab. Jetzt habe ich so viel NaHCO_3 zugesetzt, bis dessen Konzentration beläufig $n/80$, und so viel NaCl , bis dessen Konzentration 0,65 Proz. entsprach. (Das letztere setzte ich zur Lösung des Globulins zu, da die Flüssigkeit wegen der sich nicht ganz lösenden Globuline ein wenig trüb war.)

	Pepsin ccm	HCl-Eiweiß ccm
1. NaHCO_3 -Serum 0,1 ccm	0,5	0,5
2. Normalserum 0,1 ccm	0,5	0,5
3. Destilliertes Wasser 0,1 ccm	0,5	0,5

Nach einer halben Stunde im 37°-Wasserbade bei 3. vollständige Lösung, bei 1. und 2. auch nach 3 Stunden keine Änderung.

Die obigen Versuche zeigten, daß das Serum durch Dialysieren gegen destilliertes Wasser seine antiptische Wirkung verliert, diese Versuche zeigen aber, daß das dialysierte Serum nach Zusatz von NaHCO_3 die antiptische Wirkung zurückgewinnt.

Zu 2. Das Serum wurde gegen eine Flüssigkeit dialysiert, welche n/45 NaHCO_3 und 0,65proz. NaCl enthielt. (NaCl war zur Lösung der Globuline nötig.) Während der Dialyse bestimmte ich durch Titrieren mehrmals den Alkaligehalt der äußeren Flüssigkeit und fand, daß derselbe sich kaum änderte.

	Pepsin ccm	n/10 H Cl ccm	H Cl Eiweiß ccm
1. Serum n. Kompensationsdialyse 0,25 ccm	0,5	θ	0,5
2. „ „ „ 0,25 „	0,5	0,05	0,5
3. Nicht dialysiertes Serum . . . 0,25 „	0,5	θ	0,5
4. Destilliertes Wasser 0,25 „	0,5	θ	0,5

Nach einer halben Stunde in 2. und 4. vollständige Lösung, in 1. und 3. selbst nach 18 Stunden keine Veränderung.

Das in diesem Versuche benutzte dialysierte Serum enthielt Eiweiß und NaHCO_3 (NaCl wird hier nicht berücksichtigt) und *hinderte die Wirkung des Pepsins*.

Zu 3. Ich hab' aus dem Serum das Eiweiß mit Alkohol ausgefällt und filtriert. Die alkoholische Lösung habe ich mit kleiner Flamme vorsichtig eingetrocknet und den trockenen Rückstand in destilliertem Wasser gelöst, dessen Menge dem ursprünglichen Serum entsprach. So enthielt die wässrige Lösung ebensoviel trockenen Rückstand wie das ursprüngliche Serum.

Die so bereitete Lösung (eiweißfreies Serum) hinderte die Wirkung des Pepsins in demselben Grade wie das ursprüngliche Serum.

Alle drei Versuche zeigen eindeutig, daß die Ursache der antipeptischen Wirkung des Serums das darin befindliche NaHCO_3 ist.

Beitrag zur Untersuchung der Serumeiweißkörper.

(Methode der Serumgewinnung und Kritik der Rohrschen Albumin-Globulinbestimmung.)

Von

Wolfgang v. Frey.

(Aus der medizinischen Klinik Würzburg.)

(Eingegangen am 28. Februar 1924.)

Vor kurzem hat *Leendertz* (1) über Refraktometerbestimmungen im Blutserum berichtet, das einmal aus dem rasch abzentrifugierten Blutplasma und einmal auf gewöhnliche Weise durch Gerinnung des gesamten Blutes gewonnen war. Das Blut war jedesmal unter Paraffinum liquidum und in paraffinierten Gefäßen aufgefangen worden. *Leendertz* (1) fand in gewöhnlich gewonnenem Serum niedrigere Refraktationswerte wie im Plasmaserum und schloß daraus auf eine Flüssigkeitsabgabe der Formelemente bei der Gerinnung. Das Serum wurde dadurch ungefähr im Verhältnis 100 : 106 verdünnt. Die Kochsalzwerte fand *Leendertz* in beiden Serumarten gleich und nahm deshalb an, daß es sich bei der aus den Blutkörperchen abgepreßten Flüssigkeit um eine der physiologischen Kochsalzlösung ähnliche Flüssigkeit handelt. Nach diesen Untersuchungen *Leendertz* wäre also das in gewöhnlicher Weise gewonnene Serum zur quantitativen Bestimmung der Stoffe, für welches die Blutkörperchen undurchgängig sind, prinzipiell unbrauchbar. Diese Mitteilung von *Leendertz* veranlaßt mich, über die Untersuchung folgender Fragen zu berichten, die ich noch in Unkenntnis der *Leendertz*schen Arbeit auf Anregung von Herrn Prof. *Nonnenbruch* unternommen habe.

1. Ist das auf gewöhnliche Art gewonnene Serum verschieden von dem aus Plasma gewonnenen?

Die Technik war zunächst folgende: Aus der gestauten Armvene der Versuchspersonen wurde mit paraffinierter Kanüle Blut entnommen und in zwei Zentrifugenröhrchen aufgenommen, von denen das eine paraffiniert und mit Eis gekühlt war. Diese Blutprobe in dem Paraffinglas wurde sofort in der elektrischen Zentrifuge 5 Minuten lang scharf zentrifugiert und das über den sedimentierten Blutkörperchen stehende Plasma rasch abpipettiert. Dieses zusatzfrei gewonnene Plasma wie die andere Blutprobe

im nicht paraffinierten Zentrifugenglas wurden der Gerinnung überlassen, das sich bildende Fibrin bzw. der Blutkuchen wurden nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde mit einer langen Glasnadel vom Gefäßrand gelöst und das sich abscheidende Serum sowohl aus dem Plasma wie aus dem Gesamtblut gewonnen. Möglichst anschließend daran wurde die Viskosität der beiden Serumproben bestimmt. Wir benutzten für unsere Untersuchungen das Viskosimeter von *Ostwald*, das uns von *Lautenschläger*, München, nach einem im Münchener physiologischen Institut gebräuchlichen, sehr handlichen Modell geliefert worden war und eine Durchlaufzeit für 3 ccm Aqua dest. von 121 Minuten besaß. Das Instrument stand stets genau senkrecht in einer großen Glaswanne, die mit Wasser von genau 20° C gefüllt war. Zu unseren Bestimmungen genügte meist eine einmalige Füllung des vollständig trockenen Viskosimeters mit der genau abgemessenen Serummenge, wenn mehrmaliges Durchlaufenlassen des Serums Werte ergab, die um nicht mehr als 1 bis 2 Sekunden differierten. Neufüllung erfolgte stets nach völliger Reinigung und Trocknung des Instruments. Es wurde ferner nach mehreren Viskositätsbestimmungen mit Chromschwefelsäure gründlich gereinigt und von Zeit zu Zeit die Konstanz des Aqua dest.-Normalwertes nachgeprüft.

Außer der Viskosität bestimmten wir in den Proben von Plasma- und Blutserum außerdem noch die Refraktion, als gebräuchlichstes Maß der Konzentration, mittels des *Pulfrich'schen* Eintauchrefraktometers und den Gesamtstickstoff nach dem *Bangschen* Mikroverfahren. Die so erhaltenen Stickstoffwerte wurden stets zum Vergleich mit der Refraktion durch Multiplikation mit 6,25 auf Eiweißprocente umgerechnet.

Ferner bestimmten wir den NaCl-Gehalt der Sera nach *Bang* und das Mischungsverhältnis der Globuline und Albumine nach *Hammarsten* (2) in der von *Fodor* und *G. H. Fischer* (3) modifizierten Weise, die wir auch unsererseits etwas veränderten, indem wir ausgehend von 1 ccm Serum die Globuline füllten mit der fünffachen Menge gesättigter Mg-Sulfatlösung. Der Globulinniederschlag wurde filtriert und nach Auswaschung mit gesättigter Mg-Sulfatlösung der Filtrerrückstand mit dem Filter zusammen im Kjeldahlkolben verbrannt und das Globulin aus dem N-Gehalt berechnet. Die Albumine wurden aus dem Abzug der Globuline von dem Gesamtserumeiweiß rechnerisch ermittelt.

Es wurden stets Doppelbestimmungen gemacht und der Mittelwert aus beiden Bestimmungen jeweils bei Aufstellung der Tabellen benutzt.

Mit dieser Methodik haben wir das Serum aus Blut und Plasma von über 25 gesunden und kranken Personen untersucht. Die Patienten waren zum großen Teil Strumen, deren Serum noch aus weiteren Gründen (siehe *v. Frey* und *Stahnke*, Klin. Wochenschr. Nr. 37/38, 1923) untersucht wurde.

Es zeigte sich gleich zu Beginn unserer Untersuchungen, daß zwischen Plasmaserum und Blutserum ziemlich große Unterschiede, vor allem auch in der Viskosität, bestanden. Diese Unterschiede zeigten das Auffällige, daß sie nicht eindeutig nach einer bestimmten Richtung wiesen. Ganz regellos war bald die Viskosität des Plasmaserums gegenüber der des Blutserums erhöht, bald erniedrigt und unabhängig davon unterschieden sich die Zahlen der Gesamt-N-Eiweißwerte der beiden Sera ebenso wie die durch Refraktion bestimmten Konzentrationswerte um Bedeutendes mehr als die gewöhnliche Fehlerbreite beträgt. Ganz entsprechende Unterschiede zwischen den Refraktions-Eiweißwerten von Vollblutserum und Plasmaserum findet *W. Starlinger* (4) in einer inzwischen erschienenen Arbeit bei einer Nachprüfung der *Leendertz'schen* Versuche mit der gleichen Methode.

Aus Tabelle I ergibt sich in 7 (Nr. 2, 5, 8, 13, 14, 19, 20) von 19 Fällen eine Vermehrung des Gesamt-N-Eiweißes im Blutserum von mehr als 0,1 Proz., also deutlich außerhalb der Fehlergrenze liegend, ohne daß wir regelmäßig ein Ansteigen der Viskositätszahl oder eine Verminderung des Cl-Gehaltes der Sera aus dem Gesamtblut finden konnten. Nur in 3 von diesen 19 Fällen der Tabelle I war der Gesamt-N-Eiweißgehalt im Plasmaserum um mehr als der Fehlergrenze entspricht erhöht. In den übrigen 6 Fällen war die Eiweißkonzentration und mit ihr die Viskosität als Maß des Kolloidzustandes beider Serumarten innerhalb der Fehlergrenzen gleich. Das im Laufe der Untersuchung dieser 19 Fälle zwölfmal ermittelte Globulin-Albuminverhältnis zeigte geringere Schwankungen außerhalb der Fehlerbreite (2 bis 5 Proz.) und wies häufiger auf eine geringe Globulinvermehrung im Plasmaserum hin, ohne aber dessen Viskositätszahl gleichsinnig beeinflussen zu können. Mit der im weiteren Verlaufe der Untersuchungen verbesserten Technik der Venenpunktion, wozu jetzt eine ziemlich weite Kanüle genommen wurde, aus der das venöse Blut meist im Strahl unter nur kurzer Berührung mit der äußeren Luft in das Entnahmegefäß strömte, näherten sich die Reibungswerte mehr und mehr. Unterschiede der Eiweißkonzentration wiesen, wie schon bemerkt, häufiger auf eine Eiweißvermehrung im Blutserum hin gegenüber dem zugehörigen Plasmaserum wie umgekehrt.

Aus diesen Untersuchungen ergaben sich beträchtliche, nach beiden Richtungen gehende Unterschiede der beiden Serumarten, welche nichts Gesetzmäßiges zeigten.

2. Sind diese Unterschiede auch noch vorhanden, wenn das Blut zur Vermeidung von Änderungen der CO_2 -Spannung unter Paraffin aufgefangen wurde?

Seit Ewald (5) und v. Koranji (6) wissen wir schon, daß die Kohlensäure die Viskosität und Eiweißkonzentration des Serums allein meßbar nicht beeinflusst. Dagegen geht schon aus früheren Arbeiten von Hamburger (7) und v. Limbeck (8) hervor, daß die auf das Gesamtblut wirkende CO_2 eine Quellung der Blutkörperchen bewirkt, die durch Aufnahme von Wasser und Anionen, vor allem Cl, bedingt ist, vielleicht auch durch Durchtritt kolloidaler Gemenge, also von Eiweiß, durch die Blutkörperchenmembran, alles auf Kosten des Serums (v. Limbeck, l. c.). Diese Befunde sind in ihren Grundzügen neuerdings bestätigt und exakter präzisiert worden durch Arbeiten von Mukai (9) und Kloth. Meier (10) und von Hasselbalch (11). Letzterer konnte speziell nachweisen, daß sich die Wanderung der Cl-Ionen und mit ihnen die Wasserverschiebung je nach der herrschenden CO_2 -Spannung umkehrt, was auch gut die von Hamburger und v. Limbeck gefundene Reversibilität der Erscheinungen erklärt: „Mit niedriger CO_2 -Spannung wandern die Cl-Ionen aus den Blutkörperchen in das Serum und bei hoher CO_2 -Spannung geht die entgegengesetzte Wanderung vor sich“ (Hasselbalch, l. c., S. 416). Diese Befunde wurden neuerdings wieder bestätigt durch eine Arbeit von O. Schultz (12) (zusammen mit Curt Öhme), die im Verlaufe dieser Untersuchungen erschien. Die genannten Autoren konnten zeigen, daß beim Serum aus Gesamtblut, welches längere Zeit unter einem gemessenen, deutlich erhöhten Kohlensäuredruck gestanden hat, ein beträchtliches Anwachsen der Konzentrations- und Viskositätswerte zu finden ist, eine Reaktion, die auch in gewissen Grenzen umkehrbar ist. Diese

Tabelle I.

Nr.	Klinische Diagnose	Viskosität		Gesamt-N-Eiweiß		Refraktionscoefficient		Globulin/Albumin		NaCl	
		Plasma	Blut	Plasma	Blut	Plasma	Blut	Plasma	Blut	Plasma	Blut
2	Hypertonie	1,73	1,65	5,87	6,18	6,98	7,20	—	—	—	—
3	Struma	2,04	1,99	8,99	8,25	9,77	9,35	—	—	—	—
4	"	1,80	1,74	7,77	7,77	8,45	8,06	—	—	—	—
5	"	1,72	1,74	7,03	7,31	9,49	9,13	—	—	0,630	0,605
7	"	1,67	1,69	8,30	8,19	9,43	9,41	—	—	0,621	0,622
8	"	1,76	1,75	7,93	8,54	9,51	9,58	—	—	0,575	0,575
9	Tetanie	1,77	1,76	7,15	7,19	8,04	7,91	—	—	—	—
10	Anämie	1,70	1,70	6,94	6,94	7,84	7,91	37/63	32/63	0,581	0,585
11	Struma	1,70	1,64	7,38	7,38	8,54	8,21	39/61	35/65	0,553	0,596
12	"	1,65	1,68	6,69	6,75	7,95	7,95	37/63	40/60	—	—
13	"	1,73	1,73	7,31	7,56	8,42	8,38	33/63	28/72	—	—
14	"	1,68	1,69	7,06	7,38	8,70	8,49	37/63	34/66	0,594	0,596
15	Nephrose	1,64	1,63	4,38	4,34	5,42	5,40	61/59	54/54	0,621	0,628
16	Struma	1,76	1,76	8,00	8,06	8,40	8,66	37/63	34/66	0,569	0,550
17	Basedow	1,75	1,72	7,80	7,75	8,47	8,39	40/60	45/56	0,588	0,591
18	Exostasen	1,84	1,84	7,00	7,81	9,00	8,92	48/60	45/56	0,557	0,579
19	Struma	1,63	1,65	6,38	6,38	8,00	8,00	38/62	36/64	0,579	0,584
20	Basedow	1,75	1,70	6,44	6,81	8,64	8,49	42/68	38/62	0,589	0,585
21	Struma	1,69	1,70	5,12	5,19	6,62	6,75	49/51	50/50	0,617	0,602

Tabelle II.

22	Art. 63	1,63	1,64	6,63	6,44	6,94	6,89	40/60	41/59	0,638	0,639
23	Basedow	1,65	1,64	6,88	6,88	7,28	7,28	43/58	43/57	0,615	0,605
24	Neurasthenie	1,77	1,78	6,73	6,75	7,09	7,13	43/60	42/60	0,617	0,621
25	Normalf.	1,61	1,63	6,15	6,25	7,63	7,52	49/51	49/51	0,596	0,595
26	"	1,72	1,75	6,50	6,31	7,69	7,82	47/53	46/52	0,618	0,624
27	"	1,75	1,80	6,65	6,56	7,65	8,25	43/57	43/57	0,602	0,600

offenbar recht komplizierte Wirkungsweise der Kohlensäure auf das Gesamtblut erklärt wohl am besten die namentlich bei Beginn unserer Untersuchungen sehr deutlichen und dabei ziemlich regellos auftretenden Verschiedenheiten der Reibung, der Brechkraft und der Gesamteiweißwerte in Plasmaserum und Blutserum. Das bei Entnahme aus der Kanüle in das Zentrifugenglas fließende Blut hat offenbar Zeit, mit der CO_2 der umgebenden Luft in Austausch zu treten. Die CO_2 hat in dieser Zeit am meisten Wirkungsmöglichkeit auf das langsam strömende ausgebreitete Blut und vollzieht dies in ganz unkontrollierbarer, quantitativ sehr verschiedener Weise, denn sonst müßten die beiden, von diesem Augenblick an in jedem Fall gleichmäßig behandelten Blutproben auch nur durch die Art der Serumgewinnung — einerseits aus dem Plasma, andererseits aus dem Gesamtblut — bedingte gleichsinnige Veränderungen ihres Kolloidzustandes aufweisen.

Es mußte also die CO_2 -Spannung im Momente der Trennung des Plasmas bzw. Serums von entscheidendem Einfluß auf die Unterschiede der beiden Sera sein. Daß diese Beobachtung richtig erschien, darauf hin wies schon die Abnahme mit zunehmender Schnelligkeit der Entnahme.

Wenn es also gelang, das Blut unter Ausschaltung aller exogenen CO_2 -Einflüsse aufzufangen, so mußten sie durch die bedingten Verschiedenheiten der Reibungs- und Brechungswerte des Gesamt-N-Eiweißes, des Globulin-Albuminverhältnisses verschwinden. Wir gingen deshalb bei den weiteren Blutentnahmen so vor, daß wir an die paraffinierte Kanüle einen ebensolchen Gummischlauch anschlossen und diesen mit seinem anderen Ende unter Paraffinum liquidum in die Entnahmegläser eintauchten.

Es zeigte sich (Tabelle II), daß das unter völligem Luftabschluß direkt aus der Vene unter Paraffin aufgefangene Blut keine wesentlichen Unterschiede seiner beiden Serumarten mehr aufwies. Sowohl die Viskosität wie der Brechungswert (mit Ausnahme Fall 27) des Blut- und Plasmaserums als auch die Werte des Gesamt-N-Eiweißes, des Kochsalzes und des Eiweißquotienten, d. h. des Globulin-Albuminverhältnisses zeigten nunmehr Verschiedenheiten innerhalb der möglichen Fehlergrenzen.

Wir fanden also, daß Plasmaserum und Blutserum keine Unterschiede zeigten, wenn das Blut zur Vermeidung von Änderungen der CO_2 -Spannung ohne Berührung mit der Luft unter Paraffin aufgefangen wurde.

Dieses Resultat steht in einem Gegensatz zu den Untersuchungen von *Leendertz*, der das Blut auch unter Paraffin auffing und dabei regelmäßig Unterschiede der beiden Serumarten bekam. Ob *Leendertz* das Blut auch ohne Berührung mit der Luft direkt durch einen Schlauch unter das Paraffin laufen ließ, ist nicht angegeben. Vielleicht erklären sich so die Unterschiede.

3. Wie verhalten sich die durch das Kjeldahlverfahren und mit dem Refraktometer bestimmten Serumeiweißwerte zueinander?

Die von uns in den vorliegenden Untersuchungen ermittelten Eiweißwerte der beiden Serumarten, einerseits aus dem Gesamt-N-Werte, andererseits aus dem Brechungswerte, erlaubten ferner noch einen Vergleich der Methodik der beiden gebräuchlichen Arten der Eiweißbestimmung.

Eine Gegenüberstellung in Tabelle III ergab eine regelmäßige Erhöhung der Refraktionswerte gegenüber der aus den Mikrokjeldahlbestimmungen gewonnenen Zahlen, und zwar durchschnittlich um 1 bis 2 Proz. Nur in einem Falle (Nr. 22) bei einer Arteriosklerose waren die Brechungswerte um weniger als 0,5 Proz. gegenüber dem Gesamt-N-Eiweißwert erhöht. Diese schon öfters beobachtete [Reiss (13), Frisch (14), Freund u. a.], durch weitere lichtbrechende Substanzen, neben Salzen vor allem durch Lipide, bedingte Erhöhung des Brechungswertes gibt der Refraktionsbestimmung eine Ungenauigkeit, die diese Methodik für genaue quantitative Untersuchung ungeeignet erscheinen läßt. Für fortlaufende vergleichende Bestimmungen an demselben Serum hat sich allerdings die Bestimmung der Brechung schon wegen der Einfachheit der Methode als hinreichend brauchbar erwiesen.

Die refraktometrisch bestimmten Serumeiweißwerte liegen im allgemeinen beträchtlich über den chemisch bestimmten Werten. Die Differenz der beiden Werte ist nicht konstant. Die Refraktometerwerte sind, wie dies auch schon von anderen Autoren festgestellt wurde, unzuverlässig zur Bestimmung des Serumeiweißes.

4. Wie verhalten sich die nach Hammarsten und die nach Rohrer bestimmten Albumin-Globulinwerte zueinander?

Wir haben ferner die von uns ermittelten Viskositäts- und Refraktometerwerte der vorliegenden Fälle benutzt, um sie in ein System Rohrscher Kurven einzutragen. Trägt man in einem Ordinatensystem die Viskositätswerte auf der Abszisse, die Refraktometerwerte auf der Ordinate ab, so liegen die zueinander gehörenden Werte der Sera auf Schnittpunkten von Kurven, die leicht gekrümmt, zur Abszisse geneigt sind und etwas divergieren. Rohrer (15) hat die Kurven nach dem Mischungsverhältnis von Globulin-Albumin bezeichnet, so daß sich aus der Lage eines Serumwertes innerhalb des Kurvensystems unmittelbar das Verhältnis Globulin: Albumin ablesen läßt. Die mit dieser graphischen Bestimmung gewonnenen Verhältniszahlen von Globulin-Albumin sind in Tabelle IV neben die nach der oben beschriebenen Hammarstensen Methode ermittelten Werte gestellt.

Ein Vergleich der Zahlen in den entsprechenden Stäben der Tabelle für Blutserum und Plasmaserum zeigt die auffallende Ungenauigkeit dieser graphischen Methode. Nur in 4 von unseren 18 Fällen (Nr. 10, 13, 22, 27) kommt das Globulin-Albuminverhältnis nach Rohrer einigermaßen dem Fällungswert nahe. In den übrigen Fällen zeigen sich Unterschiede, die zum Teil das Verhältnis der Eiweißkonzentrationen umkehren (Nr. 21, 24) und nicht mit der sonst immer beobachteten großen Zähigkeit übereinstimmt, mit der das Blut die Zusammensetzung seiner Blutflüssigkeit mit allen Eigenschaften in mäßigen Grenzen festzuhalten versucht. Somit zeigt sich, daß diese Methodik zur genauen, quantitativen Bestimmung des Mischungsverhältnisses von Globulin-Albumin sich als gänzlich unbrauchbar erweist. Dagegen mag sie zu Vergleichsbestimmungen an demselben Serum wohl geeignet sein, wenn auch hier, wie aus Tabelle III hervorgeht, bei Vergleich der Globulin-Albuminwerte von Blut- und Plasmaserum jeweils desselben Falles, der Fehler der Methodik häufig einen größeren Betrag ausmacht, als in den mittels der Fällungsmethode ermittelten Bestimmungen. Die Beziehungen zwischen Kolloidzustand und Eiweißkonzentration dürften eben bei einer Eiweißmischung, die so vielfachen Einflüssen ausgesetzt

Tabelle III.

Nr.	Diagnose	Gesamt-N-Eiweiß			Refraktionseiweiß			Nr.	Diagnose	Gesamt-N-Eiweiß			Refraktionseiweiß		
		Plasma	Blut	Serum	Plasma	Blut	Serum			Plasma	Blut	Serum	Plasma	Blut	Serum
2	Hypertonie	5,87	6,18		6,98	7,20		15	Nephrose	4,38	4,34		5,42		5,40
3	Struma	8,99	8,25		9,77	9,35		16	Struma	8,00	8,06		8,40		8,66
4	"	7,77	7,77		8,45	3,06		17	Basedow	7,80	7,75		8,47		8,39
5	"	7,03	7,31		9,49	9,13		18	Exostasen	7,00	7,81		9,00		8,92
6	"	8,30	8,19		9,43	9,41		19	Struma	6,38	6,38		8,00		8,00
7	"	7,93	8,54		9,51	9,58		20	Basedow	6,44	6,81		8,64		8,49
8	"	7,15	7,19		8,04	7,91		21	Struma	5,12	5,19		6,62		6,75
9	Tetanie	6,94	6,94		7,84	7,91		22	Arterioskleros.	6,63	6,44		6,94		6,89
10	Anämie	7,38	7,38		8,54	8,21		23	Basedow	6,88	6,88		7,28		7,28
11	Struma	6,69	6,75		7,95	7,95		24	Neurasthenie	6,73	6,75		7,09		7,13
12	"	7,31	7,56		8,42	8,38		25	Normalf.	6,50	6,31		7,69		7,82
13	"				8,70	8,49		26	"	6,65	6,56		7,65		8,25
14	"	7,06	7,38					27	"	6,15	6,25		7,63		7,52

Tabelle IV.

Nr.	Diagnose	Globulin/Albumin nach Hammarsten			Globulin/Albumin nach Bohrer			Nr.	Diagnose	Globulin/Albumin nach Hammarsten			Globulin/Albumin nach Bohrer		
		Plasma	Blut	Serum	Plasma	Blut	Serum			Plasma	Blut	Serum	Plasma	Blut	Serum
10	Anämie	37/63	32/68		33/67	32/66		19	Struma	38/62	36/64		14/86		18/82
11	Struma	39/61	35/65		21/79	16/84		20	Basedow	42/58	38/62		27/72		21/79
12	"	37/63	40/60		22/78	27/72		21	Struma	49/51	50/50		72/28		60/40
13	"	33/67	28/72		28/72	29/71		22	Arterioskleros.	40/60	41/59		40/60		43/57
14	"	34/72	34/72		14/86	30/71		23	Basedow	42/58	43/57		36/64		34/57
15	Nephrose	61/39	66/66		90/10	88/50		24	Neurasthenie	49/57	40/40		80/20		77/53
16	Struma	37/63	34/66		33/67	28/72		25	Normalf.	45/55	38/62		20/80		31/68
17	Basedow	40/60	34/66		30/70	27/72		26	"	47/53	45/52		40/60		47/53
18	Exostasen	48/52	45/65		32/68	35/65		27	"	45/57	43/57		39/61		43/58

ist wie die Blutflüssigkeit, doch verwickelterer Natur sein, als sie durch die Beziehung des Verhältnisses Globulin: Albumin allein an Hand der *Rohrer*-schen Kurve dargestellt wird. Diese von *Rohrer* (l. c.) und *Heyder* (16) an Hand von Eiweißgemengen, die aus Mischungen reiner Globulin- und Albuminverdünnungen hergestellt waren, aufgestellten Beziehungen zwischen Reibung und Brechkraft lassen sich, wie wir in vorliegender Untersuchung u. a. gezeigt haben, nicht ohne weiteres auf die quantitativen Verhältnisse im Blutserum übertragen. Zu dem gleichen Ergebnis kamen jüngst *Neuschloß* und *Trelles* (17).

Die durch Ausfällung mit Magnesiumsulfat nach *Hammarsten* ermittelten Albumin-Globulinwerte sind von denen nach *Rohrer* aus dem Verhältnis von Viskosität zu Refraktion ermittelten Werten sehr verschieden, was gegen die Brauchbarkeit der *Rohrer*-schen Methode spricht.

Literatur.

- 1) *Leendertz*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 140, 1922. — 2) *Hammarsten*, Lehrb. d. physiol. Chem., S. 205, Bergmann 1922. — 3) *A. Fodor* und *G. J. Fischer*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 29, 1922. — 4) *W. Starlinger*, diese Zeitschr. 140, 213, 1923. — 5) *Ewald*, Du Bois Reymonds Arch. f. Physiol. 1877. — 6) *v. Koranji* und *Bence*, Pflügers Arch. 110, 513, 1905. — 7) *H. J. Hamburger*, Zeitschr. f. Biol. 28, neue Folge, X., S. 405, 1891; Du Bois Reymonds Arch. 1892, S. 513 und 1893, S. 157. — 8) *v. Limbeck*, Schmiedebergs Arch. 85, 331, 1895. — 9) *Mukai*, Journ. of Physiol. 55, 356, 1921. — 10) *Klothilde Meier*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 29, 322, 1922. — 11) *Hasselbalch* und *Warburg*, diese Zeitschr. 86, 210, 1918. — 12) *Otto Schultz*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 81, 221, 1923. — 13) *Reiss*, Ergebn. d. inn. Med. 10, 1923. — 14) *A. Frisch*, Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose 48, 149, 1921. — 15) *Rohrer*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 21, 221, 1917; auch *Naegeli*, Blutkrankheiten 1919. — 16) *E. Heyder*, Inaugural-Diss. Tübingen 1915. — 17) *Neuschloß* und *Trelles*, Klin. Wochenschr. 1923, S. 2083.

Beiträge zur Kenntnis des Wollfettes.

Von

Fritz Grassow.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Faserstoffchemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 26. März 1924.)

I. Über Cerotinsäure.

Rohwollfett¹⁾ wurde mit etwa $n/2$ alkoholischer Kalilauge am Rückflußkühler 4 Stunden verseift, der Alkohol im Vakuum bei 50° Außentemperatur und 15 mm Druck abgedampft, der Inhalt mit Wasser in einen Scheidetrichter gespült und mit viel Äther ausgeschüttelt. Es bildeten sich drei Schichten: Zu unterst eine dunkelbraune wässrige Schicht, die in Wasser löslichen Kaliseifen enthaltend, darüber eine graubraune Schicht ungelöster Kaliseifen und zu oberst die hellgelbe Ätherschicht, die die Alkohole enthielt. Die wässrige Lösung und die Seifenschicht wurden abgelassen und noch so oft mit Äther ausgeschüttelt, bis alle Alkohole aus der Seife entfernt waren (drei- bis fünfmal).

Die gesamte Menge der im Wasser gelösten und ungelösten Seifen wurde durch Ansäuern mit Salzsäure zerlegt. Die freiwerdenden Fettsäuren schwammen als krümelige, fettartige, braune Masse obenauf. Mit Äther versetzt, lösten sich die Fettsäuren fast vollständig, nur eine geringe Menge einer weißgrauen Substanz blieb ungelöst zurück. Diese wurde durch Abnutschen unter schwachem Saugen von den löslichen Fettsäuren getrennt, auf der Nutsche sechs- bis achtmal mit Äther gewaschen, um sie von den anhaftenden Fettsäuren zu befreien, dann mit Wasser sorgfältig nachgewaschen und auf einer Tonplatte im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. In der nachstehenden Mitteilung wird über diesen Körper näher berichtet.

Die ätherische Lösung der Fettsäuren wurde, nachdem sie mehreremal gewaschen worden war, im Vakuum der Wasserstrahlpumpe bei etwa

¹⁾ Für die Überlassung des Materials sind wir der Wollwäscherei Döhren sehr zu Dank verpflichtet.

40° Außentemperatur eingedampft und getrocknet. Die Fettsäuren stellten eine dunkelbraun gefärbte, salbenartige Masse dar, die bei 41,5° völlig schmilzt.

Das Mengenverhältnis der Alkohole, der Fettsäuren und des in Äther nicht löslichen Körpers ergab im Mittel folgende Zahlen¹⁾:

Alkohole	35,63 Proz.
Säuren	58,99 „
Unlösliches	2,40 „

Fraktioniertes Füllen des Säuregemisches. 4,47 g Fettsäuren wurden mit 100 ccm warmen Petroläthers extrahiert, wobei der größere Teil der Fettsäuren in Lösung ging, das Ungelöste wurde abfiltriert. Auf dem Filter blieb ein gelbes trocknes Pulver und ein dunkelbraun gefärbter, schmieriger Rest zurück. Aus dem Filtrat wurde der gesamte Petroläther abdestilliert. Die Ausbeute an dem hellgelben, fettigen Säuregemisch betrug etwa 75 Proz.

3,32 g aus Petroläther gewonnene Säuren wurden mit 20 ccm gewöhnlichen Alkohols versetzt, auf dem Wasserbade bis zum Lösen erwärmt und, um die Kristallisation zu erleichtern, 40 ccm Wasser hinzugefügt. Beim Abkühlen kristallisierten 23,5 Proz. einer weißen wachsartigen Masse aus, die abgenutscht und auf dem Tonteller getrocknet wurde.

Das Kristallgemisch wurde noch einmal mit Petroläther ausgekocht und filtriert. Auf dem Filter blieb ein braunes schmieriges Öl zurück. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft.

Überführung in Äthylester. Die getrocknete Masse wurde unter schwachem Erwärmen in der 20fachen Menge absoluten Alkohols gelöst. Sodann wurde getrocknete gasförmige Salzsäure 4 Stunden eingeleitet, wobei sich das Kölbchen etwas erwärmte. Die gelbe Lösung färbte sich dunkelbraun und schied beim Kühlerwerden einen schneeweißen, flockigen Körper aus. Der Inhalt des Kölbchens wurde noch 2 Stunden auf dem Wasserbade am Rückflußkühler gekocht²⁾. Die weißen Flocken schmolzen hierbei zu einem hellbraunen Öl und gingen dann in Lösung. Diese wurde im Vakuum bis zur Trockne eingedampft und zum größten Teil in warmem Petroläther gelöst; das Ungelöste setzte sich als dunkelbraunes Öl, das leicht erstarrte, am Boden ab. Nach der Trennung durch Dekantieren wurde die petrolätherische Lösung eingedampft und der Rückstand entsäuert. Er wurde unter

¹⁾ Vgl. *Benedikt und Lewkowitsch*, Chem. Analyses of Oils, Fats and Waxes.

²⁾ Da auf diese Weise stets ein Cl-haltiger Ester erhalten wurde, so wurde das Säuregemisch mit 0,7 Proz. HCl enthaltendem absoluten Alkohol (auf 1,15 g Säuregemisch 35 ccm absoluten Alkohols) 5 Stunden am Rückflußkühler gekocht.

schwachem Erwärmen in Äther gelöst, mit einer wässrigen Lösung von Kaliumcarbonat versetzt, abgehoben, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen und der Äther abdestilliert. In viel heißem Methylalkohol gelöst, kristallisierte beim langsamen Abkühlen ein weißer flockiger Körper aus, der ein großes Kristallisationsbestreben zeigte und einheitlich aus feinen Nadeln zusammengesetzt war. Getrocknet, bildete der Äthylester eine wachsartige weiße Masse. Ausbeute: 81,4 Proz.

Der Äthylester ist leicht löslich in warmem Äther, Essigester, Petroläther, Chloroform, aus denen er nicht wieder auskristallisierte. Aus Aceton, Eisessig kristallisiert er quantitativ wieder aus.

Zur Darstellung der freien Säure wurden 3 g Säureester mit 30 ccm n/2 alkoholischem Kali eine Stunde lang auf dem Wasserbade verseift. Nach dem Abkühlen schied sich die Kaliseife als farblose gelatinöse Masse aus. Diese wurde in warmem Äthylalkohol gelöst und die Lösung in kalte verdünnte Schwefelsäure gegossen. Die Säure schied sich sofort als weiße fettartige Masse, die obenauf schwamm, ab. Die wiederholt über Wasser geschmolzene und beim Abkühlen wieder erstarrte Säure wurde abgesaugt, mehrfach auf der Nutsche mit heißem Wasser gewaschen, getrocknet und aus Aceton umkristallisiert. Die Ausbeute von 2,83 g entspricht der Theorie, bezogen auf die Säure $C_{27}H_{54}O_2$ (410). Leicht löslich in warmem Methylalkohol, Äthylalkohol, Äther, Aceton, Benzin, Benzol, Chloroform, Essigester, Schwefelkohlenstoff. Aus heißem Aceton kristallisierte sie beim Abkühlen quantitativ in sehr schönen, warzenförmig angeordneten Nadeln aus Essigester in glänzenden Tafeln wieder aus: Nach dem Umkristallisieren aus Aceton stellte sie ein trockenes, weißes Pulver dar. Der Schmelzpunkt lag bei 76° (unscharf), nachdem schon bei 74° Sinterung eingetreten war.

Elementaranalyse nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton 0,1058 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,3 mm Druck über P_2O_5 getrocknet): 0,3060 g CO_2 0,1233 g H_2O .

$C_{27}H_{54}O_2$ (410).	Ber.	C 79,02	H 13,17;
	gef.	C 78,88	H 13,04.

Eigenschaften und Schmelzpunkt der erhaltenen Säure ließen auf Cerotinsäure schließen, von der 8,1 g aus 100 g Rohwollfett gewonnen wurden.

Reindarstellung. Da die Säure, wie der unscharfe Schmelzpunkt zeigt, noch nicht rein war, so wurde zunächst, wie *H. Meyer* vorgeschlagen und mit Erfolg bei der Reindarstellung der Lignocerinsäure¹⁾ angewendet hatte, das Lithiumsalz dargestellt.

15 g Äthylester wurden in 150 ccm heißem Alkohol gelöst, dazu 3,2 g Lithiumhydroxyd, in 48 ccm heißem Wasser gelöst, hinzugegeben

¹⁾ Monatsh. f. Chem. 84, 1113, 1913.

und das Verseifungsgemisch auf dem Wasserbade am Rückflußkühler 2 Stunden im Sieden gehalten. Beim Abkühlen fiel ein weißer, harter, körniger Körper aus, der abgesaugt und mit heißem Wasser wiederholt gewaschen wurde, um ihn vom überschüssigen Lithiumhydroxyd zu befreien. Das Lithiumcerotinat wurde getrocknet, gepulvert und dann 24 Stunden im Soxhlet mit Petroläther extrahiert, wobei gallertige Verunreinigungen abgeschieden wurden. Weiterhin wurde das Lithiumsalz noch viermal mit absolutem Alkohol ausgekocht und in der Siedehitze abfiltriert.

Cerotinsaures Lithium ist unlöslich in heißem Wasser, Äther, Alkohol, Benzol, Petroläther, Aceton, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Essigester.

Aus dem Lithiumsalz wurde die *freie Säure* hergestellt.

0,52 g Lithiumcerotinat wurden mit 10 ccm Äther und 10 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt und eine Viertelstunde geschüttelt, wobei schwache Erwärmung eintrat. Die Säure schied sich als krümelige, fettige weiße Masse oben ab. Dann wurde noch eine Stunde unter öfterem Umschütteln stehengelassen, hierauf weitere 40 ccm Äther hinzugefügt, so daß die Fettsäure ganz in Lösung ging. Im Scheidetrichter wurde die ätherische Lösung wiederholt mit Wasser gewaschen und dann der Äther im Vakuum verjagt. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton zeigte die Säure den Schmelzpunkt von 77,5°. Zur weiteren Reinigung wurde die Säure noch einmal verestert, der Äthylester wiederum mit Lithiumhydroxyd verseift und aus dem wie oben behandelten Lithiumsalz die Säure hergestellt.

Schmelzpunkt 78°

Säurezahl gef. 137,9

(theoretische Säurezahl für $C_{36}H_{52}O_2$ 141,4; für $C_{27}H_{44}O_2$ 136,5.)

Elementaranalyse 0,1113 g Substanz (bei 18° und 0,4 mm über P_2O_5 konstant getrocknet): 0,3229 g CO_2 , 0,1314 g H_2O .

$C_{27}H_{44}O_2$ (410). Ber. C 79,02 H 13,17;

gef. C 79,15 H 12,21.

Die Cerotinsäure erwies sich nach dem Hüblschen Verfahren in alkoholischer Lösung mit Jod und Quecksilberchlorid versetzt als eine gesättigte Säure; durch Titration mit Thiosulfat wurde kein Jodverbrauch festgestellt. In Chloroformlösung war sie optisch inaktiv.

Konstitution. Um die Säure näher zu bestimmen, wurde eine Anzahl von Derivaten über das Chlorid dargestellt.

Zur Darstellung des Säurechlorids wurde Thionylchlorid¹⁾ benutzt.

Methylester. 0,5 g trockene, feingepulverte Säure wurden in einem Claisenkolben, über dessen Destillierrohr ein kleiner Rückflußkühler geschoben und am Ende ein Chlorcalciumrohr vorgeschaltet war, mit reichlichem Überschuß an trockenem Thionylchlorid (3,5 ccm) versetzt. Bei schwachem Erwärmen auf dem Wasserbade ging die Fettsäure unter leb-

¹⁾ Hans Meyer und Eckert, Monatsh. f. Chem. 81, 1232, 1910; Hans Meyer, Brod und Soyka, ebendaselbst 84, 1123, 1913; Hans Meyer und Brod, ebendaselbst 84, 1147, 1913.

hafter Entwicklung von Salzsäure- und Schwefeldioxyddämpfen in Lösung. Die Lösung wurde auf dem Wasserbade 1 Stunde lang im Sieden gehalten, darauf das überschüssige Thionylchlorid bei 50° Außentemperatur im Vakuum abdestilliert.

Das Chlorid, das in der Wärme in Äther und den gebräuchlichen organischen Solvenzien löslich ist, bildet einen weißen, salbenartigen Körper, der an der Luft stark raucht, stechend riecht und einen Schmelzpunkt von 47° zeigte. (Zur Darstellung des Methylesters braucht das Chlorid nicht isoliert zu werden.) Zu dem Chlorid wurden 0,3 g trockenes Pyridin und 3 ccm trockener Methylalkohol hinzugefügt und das Ganze 48 Stunden bei Zimmertemperatur unter Abschluß von Feuchtigkeit stehengelassen. Dann wurde 1 Stunde lang bei 55 bis 60° geschüttelt, hierauf in Eis gekühlt und der ausfallende Körper abgesaugt. Um ihn vom anhaftenden Pyridinchlorid zu befreien, wurde er in Äther gelöst, im Scheidetrichter gründlich mit Wasser gewaschen und der Äther im Vakuum abdestilliert. Umkristallisation aus Essigsäuremethylester.

Elementaranalyse 0,1250 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,2 mm über P_2O_5 getrocknet): 0,3630 g CO_2 , 0,1485 g H_2O .

$C_{28}H_{56}O_2$ (414).	Ber.	C 79,25	H 13,21;
	gef.	C 79,22	H 13,29.

Im Kapillarrohr schmilzt der Methylester bei 62° (korr.) zu einer klaren Flüssigkeit.

In heißem Methylalkohol schwer, im Äthylalkohol leichter löslich. Leicht löslich in Essigester, Äther, Eisessig, Essigsäuremethylester, aus dem er beim Abkühlen in Nadelchen kristallisiert.

Verseifungszahl, gef.	133,1
Berechnet für $C_{27}H_{54}O_2$	136,5
„ „ $C_{28}H_{56}O_2$	132,1

Der entsprechend dargestellte Äthylester schmolz nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methylalkohol bei 59 bis 60° (korr.) klar.

Elementaranalyse 0,1253 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,2 mm Druck über P_2O_5 getrocknet): 0,3644 g CO_2 , 0,1498 g H_2O .

$C_{28}H_{56}O_2$ (438).	Ber.	C 79,45	H 13,24
	gef.	C 79,32	H 13,38.

Verseifungszahl. Gef.	128,9 und 128,4;
ber. für $C_{29}H_{58}O_2$	127,8.

Cerotinsäureanilid. 1 g reine Cerotinsäure wurde, wie beschrieben, mittels Thionylchlorid in das Säurechlorid übergeführt und sodann, nachdem es vom überschüssigen Thionylchlorid befreit war, mit der dreifachen molekularen Menge frisch destillierten Anilins 1 Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt. Beim Abkühlen erstarrte die Schmelze zu einem salbenartigen Produkt. Dieses wurde in Äther gelöst, zuerst mit angesäuertem, dann mit reinem Wasser gewaschen und der Äther im Vakuum verjagt. Ausbeute fast quantitativ.

Das Anilid ist in den gebräuchlichen organischen Solvenzien in der Wärme leicht löslich. Aus Essigester kristallisiert es in charakteristischen blumenkohlartigen Gebilden, aus Methylalkohol in feinen Nadelchen, die zu Büscheln vereinigt waren. Da das Präparat eine schwache Gelbfärbung zeigte, wurde es in Essigester gelöst und mit Tierkohle kurze Zeit aufgeköcht. Heiß filtriert, schieden sich die weißen Kristalle sehr schnell quantitativ wieder aus. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Essigester oder

Aceton wurde der Schmelzpunkt zu 97° (korr.) bestimmt, nachdem ein Sintern bei 95° eingetreten war.

Elementaranalyse 0,1210 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,3 mm über P_2O_5 konstant getrocknet): 0,3610 g CO_2 , 0,1310 g H_2O .

$C_{33}H_{55}NO$ (485). Ber. C 81,64 H 12,16;
gef. C 81,40 H 12,11.

6,231 mg Substanz 1,597 ccm N (22°, 761 mm 33proz. KOH).

Ber. N 2,88;
gef. N 2,97.

Das Anilid konnte ebenfalls leicht aus der in Methylalkohol gelösten Säure oder dem Methyl- oder Äthylester durch Kochen am Rückflußkühler mit einem Überschuß an Anilin gewonnen¹⁾ werden. An Stelle der Veresterung konnte so die Isolierung der Cerotinsäure aus dem aus Alkohol plus Wasser ausfallenden Säuregemisch (s. S. 62) mit Hilfe des Anilides vorgenommen werden.

Zur Identifizierung der Fettsäuren haben *Strache* und *Iritzer*²⁾ und auch *Brauns*³⁾ die Darstellung der Phenylhydrazide⁴⁾ empfohlen. Es war ihnen außer den Phenylhydraziden der niederen Fettsäuren gelungen, die der Palmitin- und der Stearinsäure zu gewinnen.

Phenylhydrazid. 1 g Äthylester wurde mit einem Überschuß von Phenylhydrazin bis zum Kochen erhitzt, wobei der Ester in Lösung ging. Die Mischung wurde etwa 30 Minuten bei 150° im Sieden gehalten, dann abgekühlt. Es fiel ein braungefärbter, fettiger Körper aus, der abgesaugt und zur Reinigung mit Methylalkohol und Tierkohle aufgeköcht wurde. Nach dem Abfiltrieren in der Hitze kristallisierten aus Methylalkohol mikroskopische, sehr schön ausgebildete weiße Nadeln aus, die sich an der Luft braun färbten.

Die Ausbeute war gering: 20 Proz. (die Ausbeute an Palmitinsäurephenylhydrazid belief sich bei *Brauns* auf 25 Proz., an Stearinsäurephenylhydrazid auf 18 Proz.).

Trotz wiederholten Umkristallisierens und Aufkochens mit Tierkohle gelang es nicht, den Körper so rein darzustellen, daß seine Analysenresultate zur Charakterisierung der Cerotinsäure hätten herangezogen werden können. Bei 61° war der Körper vollständig geschmolzen.

*Brauns*⁵⁾ war die Darstellung der Mentholderivate verschiedener Fettsäuren gelungen.

Cerotinsaures Menthol. Das Ausgangsmaterial bildete wieder das Säurechlorid, das aus 2 g Cerotinsäure mittels Thionylchlorid dargestellt wurde. Zu dem Säurechlorid wurden 1 ccm Pyridin und 1,6 g (doppelt-molekulare Menge) Menthol, das durch Destillation im Hochvakuum vom Wasser befreit worden war, hinzugegeben. Beim Erwärmen schmolz das Reaktionsgemisch, das 1 Stunde lang auf 100° gehalten wurde. Nach dem Abkühlen erstarrte die Masse. Sie wurde in Äther gelöst, im Scheidetrichter bis zum Verschwinden des Pyridingeruches zunächst mit angesäuertem, dann mit reinem Wasser gewaschen und der Äther verdunstet. Um den

¹⁾ Vgl. *H. Meyer*, Monatsh. f. Chem. **28**, 1211, 1907.

²⁾ *Strache* und *Iritzer*, ebendasselbst **14**, 37, 1893.

³⁾ *Brauns*, Journ. Amer. Chem. Soc. **2**, 1478, 1920.

⁴⁾ Vgl. *Autenrieth*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 168, 1901.

⁵⁾ *Brauns*, Journ. Amer. Chem. Soc. **2**, 1478, 1920.

Mentholester vom überschüssigen Menthol zu befreien, dessen Geruch dem Präparat intensiv anhaftete, mußte er häufig (sechsmal) aus heißem Äthylalkohol umkristallisiert werden.

Ausbeute gering, 0,54 g, d. h. 20,3 Proz. Leicht löslich in der Wärme in Äther, Eisessig, Chloroform, Benzol, Aceton, Methylacetat, Äthylalkohol; fast unlöslich in Methylalkohol. Aus Aceton oder Äthylalkohol fällt der Ester als hellgelbes, weiches Wachs aus; dieses schmolz bei 43 bis 44° vollständig. Unter dem Mikroskop zeigte es, aus Aceton umkristallisiert, die Form von Blättchen. Hatte der Mentholester die an ihn gestellten Erwartungen, einen gut kristallisierenden Körper zu geben, nicht erfüllt, so zeigte doch seine Analyse recht deutlich, daß der Cerotinsäure die Formel $C_{27}H_{54}O_2$ (und nicht $C_{26}H_{52}O_2$) zukommt.

Elementaranalyse 0,1013 g Substanz (bei 20° und 0,3 mm über P_2O_5 konstant getrocknet): 0,3004 g CO_2 , 0,1191 g H_2O .

$C_{26}H_{52}COOC_{10}H_{19}$ (548).	Ber.	C 81,02	H 13,14;
	gef.	C 80,88	H 13,16,

Es berechnet sich für

$C_{25}H_{51}COOC_{10}H_{19}$ (534).		C 80,09	H 13,11.
--------------------------------------	-----------	---------	----------

Phenolester. Aus 1,5 g Cerotinsäure dargestelltes Säurechlorid wurde mit 1 ccm Pyridin und der doppeltmolekularen Menge Phenol versetzt, auf 60° erwärmt und auf dieser Temperatur 1 Stunde lang gelassen. Dann wurde nach dem Abkühlen so viel Äther hinzugefügt, daß sich das Ganze löste. Der Überschuß an Pyridin und Phenol sowie das sich bildende Pyridinchlorid wurden durch aufeinander folgendes Waschen der ätherischen Lösung im Scheidetrichter mit angesäuertem, mit alkalischem und mit destilliertem Wasser entfernt. Nach dem Abdampfen des Äthers wurde der Rückstand aus Aceton umkristallisiert; wachsartiger Körper. Ausbeute: 1,42 g, das sind etwa 75 Proz.

Leicht löslich in heißem Chloroform, Essigester, Äther, Alkohol; aus Aceton in Blättchen auskristallisierend. Schmelzpunkt bei 59°.

Elementaranalyse 0,1227 g Substanz (bei 20° und 0,3 mm über P_2O_5 konstant getrocknet): 0,3672 g CO_2 , 0,1323 g H_2O .

$C_{33}H_{58}O_2$ (486).	Ber.	C 81,48	H 11,93;
	gef.	C 81,64	H 12,07.

*Cerotinsaures Cholesterin*¹⁾. 3,10 g (1,1fach molekulare Menge) Cholesterin wurden in der Wärme in 15 ccm trockenem Pyridin gelöst und zu dem im Destillationskölbchen aus 3 g Säure mittels Thionylchlorid hergestellten Säurechlorid gegeben, das Kölbchen auf 80° erwärmt und die Lösung eine Stunde bei dieser Temperatur geschüttelt. Sodann wurde das Pyridin bei 60° Außentemperatur im Vakuum der Wasserstrahlpumpe abgesaugt, der Rückstand mit Essigester aufgenommen, mit angesäuertem Wasser bis zum Verschwinden des Pyridingeruches und mit reinem Wasser gewaschen. Die Essigesterlösung wurde im Vakuum bei 50° auf ein Drittel ihres Volumens eingengt, in Kältemischung abgekühlt und die Kristallisation durch Zugabe von Methylalkohol unterstützt. Abgesaugt und getrocknet, ergab sich eine Ausbeute von 5,4 g (95 Proz. der Theorie). Cholesterincerotinat ist leicht löslich in kaltem Benzol, Chloroform, ebenso in der Wärme in Aceton, Essigester, Äther, Methylacetat, Petroläther. Schwer löslich in heißem Äthylalkohol, fast unlöslich in Methylalkohol. Aus Essigester kristallisiert

¹⁾ *Abderhalden und Kautzsch*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 75, 1910.

es in Blättchen. Schmelzpunkt bei 63° zu einer klaren Flüssigkeit, sintert bereits bei 55°, eine Eigentümlichkeit, die es mit den Cholesterinestern der anderen Fettsäuren teilt.

Das Cholesterincerotinat, das ein feines weißes Pulver bildet, ist hygroskopisch und dreht die Polarisationssebene nach links. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Essigester ergab sich in Acetylentetrachlorid gelöst:

$$[\alpha]_D^{21} = \frac{-1,62^\circ \cdot 3,4096}{1,15377 \cdot 0,1782} = -20,15^\circ.$$

Ein anderes Präparat, fünfmal aus Essigester umkristallisiert, ergab in Acetylentetrachlorid

$$[\alpha]_D^{21} = \frac{-1,60^\circ \cdot 3,4202}{1,15334 \cdot 0,1782} = -20,03^\circ.$$

Elementaranalyse 0,1057 g Substanz (bei 21° und 0,3 mm über P₂O₅ konstant getrocknet): 0,3226 g CO₂, 0,1164 g H₂O.

C ₅₄ H ₉₈ O ₂ (778).	Ber.	C 83,29	H 12,59;
	gef.	C 83,26	H 12,32.

*Anhydrid*¹⁾. Das aus 1 g Cerotinsäure gewonnene Chlorid wurde in 75 ccm trockenem Äther gelöst und dazu 3 ccm trockenes Pyridin und 1 g Cerotinsäure in 75 ccm trockenem Äther gelöst hinzugegeben. Das Kölbchen wurde eine Viertelstunde lang bei Zimmertemperatur geschüttelt und dann 14 Stunden lang verschlossen stehengelassen. Es fiel ein weißer Körper aus. Der Äther wurde im Vakuum verdunstet und der Ätherrückstand mit Essigester aufgenommen, mit angesäuertem und reinem Wasser gewaschen und bis zur beginnenden Kristallisation eingengt. Abgenutscht und getrocknet, bildet das Anhydrid ein weißes Pulver.

In seinen Lösungsverhältnissen in organischen Solvenzien zeigt das Anhydrid der Säure gegenüber eine wesentliche Verschiedenheit. In Chloroform und Essigester ist es in der Wärme ebenfalls leicht löslich, weit schwerer jedoch als die Säure in Äthylalkohol, Petroläther, Aceton, aus dem es in büschelförmig angeordneten Nadeln kristallisiert. Der Schmelzpunkt lag bei 79°.

Elementaranalyse des Säureanhydrids 0,1151 g Substanz (bei 20° und 0,3 mm über P₂O₅ konstant getrocknet): 0,3403 g CO₂, 0,1367 g H₂O.

C ₅₄ H ₁₀₆ O ₃ (802).	Ber.	C 80,79	H 13,21;
	gef.	C 80,66	H 13,29.

Amid. 4 g Fettsäure wurden in das Chlorid übergeführt, dieses in 30 ccm trockenem Äther gelöst und in die mit Eis gekühlte Lösung 30 Minuten lang trockenes Ammoniakgas eingeleitet. Der verdunstete Äther wurde noch einmal durch 30 ccm trockenen Äther ersetzt. Das weiß ausfallende Amid wurde abgesaugt und in der etwa 15fachen Gewichtsmenge heißen absoluten Alkohols gelöst. Ungelöst blieb das Ammoniumchlorid, aus dem Filtrat kristallisierte das Amid wieder aus, Ausbeute quantitativ. Das Präparat wurde noch dreimal aus Essigester umkristallisiert; Schmelzpunkt 106°. Trockenes weißes Pulver, löslich in Chloroform, Bromoform, Benzol, Tetra-

¹⁾ *Einhorn und Seuffert*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **43**, 2988, 1910; vgl. *Autenrieth*, ebendaselbst **20**, 3188, 1887; **34**, 168, 1901; *Behal*, C. r. d. l'Acad. des sciences **128**, 1460, 1899; **129**, 68, 1891.

chlorkohlenstoff. Schwerer löslich in Äthylalkohol, Essigester, fast unlöslich in heißem Aceton, Methylacetat, Methylalkohol, Petroläther, Äther.

Elementaranalyse 0,1140 g Substanz (19° , 0,4 mm über P_2O_5 , konstant getrocknet): 0,3214 g CO_2 , 0,1319 g H_2O .

$C_{27}H_{55}ON$ (409). Ber. C 79,22 H 13,45;
gef. C 79,42 H 13,37.

9,397 mg Substanz 0,308 ccm N (21° , 748 mm, 33proz. KOH). 4,475 mg Substanz 0,132 ccm N (24° , 764 mm, 33proz. KOH).

Ber. N 3,42;
gef. N 3,67,
gef. N 3,36.

Identität mit der Cerotinsäure des Bienenwaxes. Von Darmstätter und Lifschütz ist die Identität der von ihnen aus dem Wollfett isolierten Cerotinsäure mit der aus dem Bienenwachs zu gewinnenden angezweifelt worden, da sie einige Differenzen in ihrem Verhalten zu Lösungsmitteln beobachtet hatten und der Schmelzpunkt des Magnesiumsalzes ihrer Cerotinsäure mit dem in der Literatur angegebenen des Magnesiumsalzes der aus dem Bienenwachs gewonnenen Cerotinsäure nicht übereinstimmte.

Um zu prüfen, ob die dargestellte Cerotinsäure mit der aus dem Bienenwachs zu erhaltenden identisch ist, wurde die Säure aus dem Bienenwachs nach den Angaben *Maries*¹⁾ gewonnen und sie und ihre Derivate mit den oben beschriebenen verglichen. Die nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über die Schmelzpunkte der in der Literatur angegebenen und selbst hergestellten Präparate:

Körper	In der Literatur- angegeben	Eigene Darstellung aus	
		Wollfett	Bienenwachs
Cerotinsäure	von 70 bis 84°	$78-79^{\circ}$	$78-79^{\circ}$
Methylester	von $60^{\circ 2)}$ bis $62^{\circ 3)}$	62°	$61,5-62^{\circ}$
Äthylester	$59-60^{\circ}$ 60°	$59-60^{\circ}$	$59-60^{\circ}$
Amid	$106^{\circ 4)}$ $109^{\circ 5)}$	106°	106°
Anilid	—	97°	96°
Cholesterinester . .	—	63°	$63-65^{\circ}$

Die Schmelzpunkte der verschiedenen Derivate stimmen so weit überein, daß die Identität beider Säuren gewiß scheint. Das Verhalten der Derivate beider Säuren organischen Lösungsmitteln gegenüber war ebenso das gleiche. Mischungen der Derivate beider Säuren ergaben unveränderte Schmelzpunkte.

¹⁾ *Marie*, Ann. d. Chim. 7, 160, 1896.

²⁾ *Natzger*, Liebigs Ann. 224, 234, 1885.

³⁾ *Marie*, Ann. d. Chim. 7, 195, 1895.

⁴⁾ *Röhmman*, diese Zeitschr. 77, 318, 1916.

⁵⁾ *Marie*, Ann. d. Chim. 7, 208, 1895.

Zum Vergleich beider Säuren wurde weiter die Drehung des Cholesterinesters herangezogen.

In Acetylentetrachlorid gelöst, ergab der Ester der Cerotinsäure des Bienenwachses:

$$[\alpha]_D^{23} = \frac{-1,66 \cdot 3,3900}{1 \cdot 1,4632 \cdot 0,1890} = -20,35^\circ$$

(der Ester der Cerotinsäure des Wollfettes hatte in Acetylentetrachlorid

$$[\alpha]_D^{21} = -20,15^\circ$$

und

$$[\alpha]_D^{21} = -20,03^\circ$$

ergeben).

Schließlich wurde das Molekulargewicht der Cerotinsäure aus dem Bienenwachs mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung in Phenol nach *Beckmann* bestimmt:

$$M = \frac{K \cdot 1000 \cdot g}{L \cdot \Delta}$$

<i>K</i> molekulare Gefrierpunktskonstante für Phenol . .	7,2
<i>L</i> verwandte Menge Phenol	25,1586 g
Gefrierpunktsablesung im Mittel	3,085°
<i>g</i> verwandte Menge Cerotinsäure	0,2540 g
Gefrierpunkt im Mittel	2,910°
Δ Gefrierpunktserniedrigung 3,085 bis 2,910°	0,175°

$$M = \frac{7200 \cdot 0,2540}{25,1586 \cdot 0,175} = 415,4.$$

Das Molekulargewicht für eine Säure $C_{27}H_{54}O_2$ berechnet sich zu 410.

II. Über die Verbindung $C_{30}H_{60}O_4$.

Gewinnung. Beim Lösen des Säuregemisches, das durch Ansäuern der Kaliseifen des Wollfettes erhalten wird¹⁾, in Äther bleibt in geringer Menge (etwa 2 bis 2,5 Proz.) ein grauer, schmieriger Körper zurück. Da er sich durch Filtrieren nur sehr schlecht von der ätherischen Lösung der Säuren trennen ließ, so wurde diese dekantiert und der graue Rückstand im Scheidetrichter unter kräftigem Schütteln so oft mit Äther gewaschen, bis er farblos blieb. Dann wurde er noch mehreremal im Scheidetrichter mit Wasser gewaschen, abfiltriert und auf einer Tonplatte getrocknet.

Um die vorhergehende, langwierige Trennung in Alkohole und Säuren zur Gewinnung des in Frage kommenden Körpers zu umgehen, wurden 250 g Wollfett verseift und das Reaktionsprodukt

¹⁾ Siehe Abschnitt I.

unter Eiskühlung mit verdünnter Schwefelsäure gegen Kongorot neutralisiert. Hiernach wurde schwach erwärmt und etwa 2 Stunden stehengelassen. Im Gefäß setzte sich eine große Menge Kaliumsulfat ab. Die krümelige Masse der Fettsäuren schwamm oben auf der hellgelb gefärbten klaren alkoholischen Salzlösung. Es wurde dann so viel Äther hinzugesetzt, daß sich die Fettsäuren lösten (etwa 1 Liter) und das Sulfat und die Salzlösung abgehebert. In der ätherischen Lösung schwammen graue Flocken des im ersten Abschnitt erwähnten Körpers.

Zur Reindarstellung des auf der Tonplatte getrockneten Körpers wurde er in viel Tetrachlorkohlenstoff in der Wärme gelöst, mit Tierkohle aufgeköcht, heiß filtriert und die Lösung bei 35° Außentemperatur im Vakuum auf ein Drittel eingeengt. Beim Abkühlen und auf Zusatz von Petroläther fiel der Körper feinkristallinisch aus.

Er ist in der Wärme löslich in Benzol, Pyridin, Essigester, aus dem er in deutlich ausgebildeten Blättchen kristallisiert, in Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, aus denen er leicht in Form feiner, zu Büscheln vereinigten Nadeln auskristallisiert. In heißem Äthylalkohol ist er nur schwer löslich, noch schwerer in Methylalkohol; unlöslich in Äther.

Der Körper bildet ein weißgraues Pulver, dessen Schmelzpunkt nach weiterem dreimaligen Umkristallisieren aus Tetrachlorkohlenstoff bei 102 bis 104° lag.

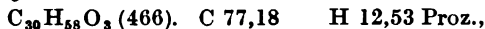
Marchetti hatte diesen Körper als erster aus dem Wollfett isoliert und ihn für einen Alkohol von der Formel $C_{10}H_{20}O$ gehalten.

Um zu untersuchen, ob eine ungesättigte Verbindung vorliegt, wurde der Körper nach dem von *Hübl* angegebenen Verfahren auf sein Jodadditionsvermögen geprüft. Es konnte keine Jodaufnahme festgestellt werden.

Darmstätter und *Lifschütz* hielten den Körper auch zuerst für einen Alkohol und gaben ihm dieselbe Formel $C_{10}H_{20}O$, änderten aber später ihre Ansicht¹⁾. Danach ist zu unterscheiden:

1. Die *Säure*, die sie *Lanocerinsäure* nannten, und der die Formel einer Dioxysäure von der Zusammensetzung $C_{30}H_{60}O_4$ zukommt; löslich in heißem Alkohol, unlöslich in warmem Äther; sintert bei 102°, schmilzt klar bei 104 bis 105° und erstarrt wieder bei 103 bis 101°. Der nach dem Schmelzen resultierende Körper ist

2. das *Anhydrid* der Säure



das 1 Mol. Wasser weniger als die ursprüngliche Säure enthält, sonst aber eine ausgesprochene Säure ist, da ihre Carbonylgruppe nicht angegriffen ist. Die Molekel Wasser entstammt den beiden Hydroxylgruppen. Beim Kochen mit verdünnten Säuren geht die Säure in

3. das *Lacton* $C_{30}H_{58}O_3$ über. Die Molekel Wasser wird von der Carboxyl- und einer Hydroxylgruppe abgespalten. Der Schmelzpunkt liegt bei 86°.

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29, 1474, 1896.

Nach der Ansicht von *Darmstätter* und *Lifschütz* läßt sich die Säure aus der Seife nur mit der größten Vorsicht frei machen, da die Säure sehr leicht lactonisiert und man immer größere oder kleinere Mengen Lacton neben der freien Säure erhält. Das Lacton läßt sich von der Säure leicht durch warmen Äther trennen, in dem die Säure schwer löslich ist.

Ebensowenig wie *Röhmnn*¹⁾ ist es mir gelungen, die Säure zu gewinnen²⁾. *Stürcke*³⁾ isolierte aus dem Carnaubawachs einen Körper vom Schmelzpunkt 103,5°, dessen Elementaranalyse mit 77,81 Proz. C und 12,56 Proz. H auf die Formel $C_{21}H_{40}O_2$ hindeutete.

Hans Meyer und *Waller Soyka*⁴⁾ stellten aus dem mexikanischen Candellilawachs einen Körper dar, der bei 88° schmolz und in seinen Eigenschaften dem Lacton der Lanocerinsäure gleich. Die Analyse ergab:

C 76,7	H 12,5,
C 77,0	H 12,3.

H. Meyer und *Soyka* versuchten zur Unterstützung der Ansicht, daß es sich um ein Oxylacton handle, die Substanz nach *Schotten-Baumann* zu benzoylieren, aber weder die Einführung des Benzolrestes, noch eine Einwirkung von Phthalsäureanhydrid konnte erzielt werden.

Meine Beobachtungen stimmen mit denen von *Darmstätter* und *Lifschütz* so weit überein, als auch ich aus dem Säuregemisch den in Äther und Alkohol schwer löslichen Körper isolieren konnte, dessen Schmelzpunkt bei 102 bis 104° liegt und den sie als das Anhydrid der Lanocerinsäure bezeichnen.

Bei dem Versuche, diesen Körper in andere Verbindungen überzuführen, gelangte ich stets zu einem Körper, dessen Schmelzpunkt bei 88° liegt und der dem Körper entspricht, den *Darmstätter* und *Lifschütz* durch Kochen mit Säuren des bei 102 bis 104° schmelzenden Anhydrids erhalten. *Darmstätter* und *Lifschütz* nehmen an, daß es sich um zwei Modifikationen eines Körpers handelt. Ob dieser Schluß berechtigt ist, kann ich aus meinen Versuchen nicht folgern. Im Gegensatz zu *Darmstätter* und *Lifschütz* konnte ich aber nach längerem Kochen in alkoholischer Lösung Alkaliaufnahme feststellen.

¹⁾ *Röhmnn*, diese Zeitschr. 77, 321, 1916.

²⁾ Vgl. *Edv. Hjelt*, Über die Lactone, Sammlung chem. und chem.-techn. Vorträge 1903, S. 103. Bei den meisten γ -Oxysäuren findet die innere Wasserabspaltung schon bei gewöhnlicher Temperatur, in Wasserlösung unmittelbar bei der Bildung der Säuren bzw. beim Freimachen aus ihren Salzen statt, weshalb die Oxysäuren als solche überhaupt nicht isoliert werden können. — Es ist leicht möglich, daß dieses negative Ergebnis mit der Verarbeitung eines technischen Wollfettes unbekannter Vorgeschichte zusammenhängt.

³⁾ *Liebigs Ann.* 223, 283, 1884.

⁴⁾ *Monatsh. f. Chem.* 34, 1159, 1913.

Die Elementaranalyse ergab folgende Werte:

C:	76,92	76,76	76,90,
H:	12,82	13,17	13,25.

Darmstätter und *Löschütz* hatten gefunden:

C:	76,84	76,74	77,67,
H:	12,85	13,11	12,85.

Ebensowenig gelang die Einführung der Aminogruppe, die Einwirkung von Phenylhydrazin oder eine Methylierung oder Äthylierung. Der aus dem Wollfett erhaltene bei 102 bis 104° schmelzende Körper wurde zu acetylieren versucht, aber mit negativem Ergebnis.

Durch mehrstündiges Kochen mit alkoholischer Kalilauge am Rückflußkühler wurde die *Bildung des Kalisalzes* erreicht, dessen Verseifungszahl beim Titrieren mit Säure aber infolge der Lactonbildung keine stimmenden Werte ergab.

Sehr leicht konnte die Entstehung des Kalisalzes durch Schmelzen des Lactons mit festem Kaliumhydroxyd erzielt werden. 2 g Lacton wurden in 8 g schmelzendes Kaliumhydroxyd in kleinen Mengen eingetragen. Das Kalisalz schied sich als schwammige Masse über dem geschmolzenen Kali ab. Um vom Kali zu befreien, wurde viermal mit Alkohol ausgekocht. Das Kalisalz bildete dann ein feinkörniges Pulver. Es ist in Wasser leicht löslich (auch auf Zugabe von Kaliumchlorid fiel die Kaliseife nicht aus), unlöslich in Alkohol und organischen Lösungsmitteln in Chloroform, Benzol, Aceton, Essigester, Äther. Säuert man die Lösung an, so erhält man nicht die Säure, sondern sogleich das bei 88° schmelzende Lacton wieder zurück.

Um die Löslichkeit anderer *Salze* kennenzulernen, wurden zu der Kaliseifenlösung verschiedene anorganische Salzlösungen hinzugefügt.

Auf Zugabe von gelöstem Kochsalz bildete sich der schleimige Niederschlag der schwerer löslichen Natronseife.

Auf Zusatz von Silbernitrat fiel das Silbersalz als weißer, flockiger Niederschlag aus, der sich beim Erwärmen körnig absetzte. Das Silbersalz ist leicht löslich im Ammoniak und fällt beim Ansäuern wieder aus. Dem Lichte ausgesetzt, färbt sich das weiße Silbersalz mattgrün.

Das Lithiumsalz ist in Wasser löslich, das Kaliumsalz bildet einen weißen, gelatinösen Niederschlag, das Kupfersalz einen schön hellgrün gefärbten. Auf Zugabe von Kobaltchlorür wurde ein blauroter, von Quecksilbernitrat (oxydul) ein apfelgrüner, von Bleiacetat ein weißer, körniger Niederschlag erhalten.

Der Versuch, durch Kochen der Kaliseife in alkalischer Lösung mit Dimethylsulfat eine Veresterung zu erreichen, gelang nicht, dagegen führte die Einwirkung von Methyljodid auf das Silbersalz zum Ziel.

Methylester der Lanocerinsäure. 5 g Silbersalz der Lanocerinsäure wurden mit der doppeltmolekularen Menge Methyljodid und 40 ccm Tetrachlorkohlenstoff versetzt. Es trat Erwärmung und Gelbfärbung ein. Das Reaktionsgemisch wurde 1 Stunde lang am Rückflußkühler im Sieden gehalten. Nachdem noch etwa 40 ccm Tetrachlorkohlenstoff hinzugegeben worden waren, wurde die Lösung von dem zurückbleibenden Silberjodid

in der Wärme abgesaugt, der Rückstand noch dreimal mit Tetrachlorkohlenstoff ausgekocht und Tetrachlorkohlenstoff und überschüssiges Methyljodid der vereinigten Filtrate bei 60° im Vakuum fortgedampft. Der zurückbleibende, schwach hellgelb gefärbte Körper ist unlöslich in Wasser, in der Wärme leicht löslich in organischen Lösungsmitteln. Aus Aceton kristallisierte er quantitativ wieder aus. Der Schmelzpunkt des gelblichen Methylesters lag nach fünfmaligem Umkristallisieren aus Aceton bei 79 bis 80°.

Elementaranalyse: 0,1154 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,3 mm Druck über P_2O_5 konstant getrocknet): 0,3152 g CO_2 , 0,1309 g H_2O .

$C_{31}H_{52}O_4$	Ber.	C 74,69	H 12,45;
	gef.	C 74,52	H 12,69.

Molekulargewichtsbestimmung in Phenol nach *Beckmann* mittels der Gefrierpunktserniedrigung:

$$\begin{aligned}\frac{K \cdot g \cdot 1000}{L \cdot d} &= \frac{7200 \cdot 0,4334}{22,8956 \cdot 0,264} = 516,2, \\ &= \frac{7200 \cdot 0,5732}{22,8956 \cdot 0,365} = 493,8, \\ &= \frac{7200 \cdot 0,2610}{22,8956 \cdot 0,169} = 491,7.\end{aligned}$$

Mittel: 500,6, ber. 498.

Benzylester. 3 g des Silbersalzes wurden mit der molekularen Menge Benzylchlorid und 35 ccm Benzol versetzt und am Rückflußkühler 1 ½ Stunde gekocht. Sodann wurde, nachdem 40 ccm Benzol zur Verdünnung hinzugegeben worden waren, warm abgesaugt, das zurückbleibende Silberchlorid dreimal mit Benzol ausgekocht und die Benzollösungen der Filtrate im Vakuum bei etwa 70° eingedampft.

Der Rückstand war unlöslich in Wasser, in der Wärme leicht löslich in Äther, Tetrachlorkohlenstoff, Petroläther, Chloroform, aus denen er jedoch nicht wieder auskristallisierte. Aus Aceton, Äthylalkohol und Methylalkohol, in dem er schwer löslich ist, kristallisiert der Benzylester wieder aus. Die Ausbeute betrug 55 Proz. der Theorie. Der Benzylester bildet nach häufigem (sechsmal) Umkristallisieren aus Aceton ein weißes, feinkörniges, hygroskopisches Pulver, dessen Schmelzpunkt bei 80° lag.

Elementaranalyse: 0,1015 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,3 mm Druck über P_2O_5 konstant getrocknet): 0,2885 g CO_2 , 0,1041 g H_2O .

$C_{37}H_{66}O_4$	Ber.	C 77,35	H 11,49;
	gef.	C 77,54	H 11,74.

Molekulargewichtsbestimmung in Phenol nach *Beckmann* mittels der Gefrierpunktserniedrigung:

$$\begin{aligned}\frac{K \cdot g \cdot 1000}{L \cdot d} &= \frac{7200 \cdot 0,2104}{25,6902 \cdot 0,102} = 580, \\ &= \frac{7200 \cdot 0,1089}{25,6902 \cdot 0,055} = 555.\end{aligned}$$

Mittel: 567, ber. 574

Durch Einwirken von Benzoylchlorid auf das Silbersalz wurde das gemischte *Anhydrid* $C_{29}H_{57}(OH)_2CO$ erhalten.

2 g Silbersalz wurden in 30 ccm Toluol aufgeschlämmt, die molekulare Menge Benzoylchlorid hinzugegeben und das Ganze am Rückflußkühler 1½ Stunden im Sieden gehalten. Von Silberchlorid wurde in der Wärme abgesaugt, das Silberchlorid noch mehrere Male mit Toluol ausgekocht und dann die Toluollösungen im Vakuum eingedampft. Die Ausbeute belief sich auf 95 Proz. der Theorie. Das Anhydrid ist in der Wärme löslich in Aceton, Äthylalkohol, Essigester, schwerer in Äther, Petroläther, sehr schwer in Methylalkohol, sehr leicht in Tetrachlorkohlenstoff, Toluol, Benzol. Aus Aceton kristallisiert das Anhydrid wieder aus. Der Körper konnte erst nach sechsmaligem Umkristallisieren aus Aceton rein erhalten werden. Es bildet sich ein weißes, feinkörniges Pulver, dessen Schmelzpunkt bei 76° lag.

Elementaranalyse: 0,1031 g Substanz (bei Zimmertemperatur und 0,4 mm Druck über P₂O₅ konstant getrocknet): 0,2855 g CO₂; 0,1014 g H₂O.

C ₃₇ H ₅₄ O ₅ .	Ber.		C 75,51	H 10,88;
	gef.		C 75,55	H 11,00.

Molekulargewichtsbestimmung in Phenol nach *Beckmann* mittels Gefrierpunktserniedrigung:

$$\frac{K \cdot g \cdot 1000}{L \cdot d} = \frac{7200 \cdot 0,2930}{32,2780 \cdot 1,117} = 585,1, \text{ ber. } 588.$$

Die Versuche sprechen also dafür, daß ein Lacton C₃₀H₅₈O₃ vorliegt.

Die vorstehend beschriebenen Versuche wurden im Kaiser Wilhelm-Institut für Faserstoffchemie, Dahlem, unter Leitung der Herren Prof. *M. Bergmann* und *R. O. Herzog* ausgeführt.

Über Äther von Polysacchariden mit Oxysäuren.

Von

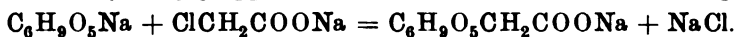
J. K. Chowdhury.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Faserstoffchemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 26. März 1924.)

Die vorliegende Untersuchung gilt in erster Linie der Ätherbildung der Cellulose mit Glykol- und anderen Oxysäuren, weiterhin wird die Reaktion auf Stärke und Inulin übertragen.

Die zuerst in einem Patent¹⁾ erwähnte Reaktion besitzt besondere Bedeutung, weil sie einen neuen Typus von Celluloseäthern bekannt gemacht hat und weil das Reaktionsprodukt wasserlöslich ist. Es handelt sich um eine Ätherbildung der Alkoholgruppe der Glykolsäure und einer Hydroxylgruppe der Cellulose im Sinne der Gleichung:



Die Reaktion verläuft also analog der Einwirkung von Chlor-essigsäure auf Natriumalkoholat, die zu einem einfachen Glykolsäure-äther, Äthoxyglykolsäure, führt²⁾. Ein Glykolsäurederivat von Glucose wurde von *E. Fischer* und *Helferich*³⁾ indirekt dargestellt, als sie Acetobromglucose auf glykolsaures Äthyl in Gegenwart von Ag_2O einwirken ließen.

I. Celluloseäther.

Das Studium von Celluloseäthern ist erst vor wenigen Jahren in Angriff genommen worden. 1912 erhielten *Bayer & Co.*⁴⁾ ein Gemisch von Mono-, Di- und Triäthyläther von Cellulose durch die Einwirkung von Alkyljodid auf Alkalicellulose im geschlossenen Rohre. *Denham* und *Woodhouse*⁵⁾ stellten 1913 Dimethylcellulose durch fünf- bis sechsmalige Einwirkung von konzentrierter Natronlauge und Dimethylsulfat auf Cellulose her. 1921 gewann *Denham*⁶⁾ einen Trimethyläther der Cellulose durch ungefähr 20mal wiederholte Behandlung der Dimethylcellulose mit Natronlauge und Dimethylsulfat. Der Dimethyl-

¹⁾ D. R.-P. Nr. 332203, Kl. 120, Gr. 6. Weitere Andeutungen des Erfinders in *Heusers* „Cellulose-Chemie“ (2. Aufl., S. 81) sind erst erschienen, als bereits ein wesentlicher Teil der Versuche abgeschlossen war.

²⁾ *Heintz*, Ann. d. Phys. **109**, 331.

³⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm. **383**, 83–88, 1911.

⁴⁾ D. R.-P. Nr. 322586, Kl. 120, 26. Januar 1912.

⁵⁾ Journ. Chem. Soc. **103**, II., S. 1735, 1913.

⁶⁾ Ebendasselbst **119** u. **120**, 77, 1921.

äther war löslich in kaltem Wasser und unlöslich in organischen Lösungsmitteln, während der Trimethyläther sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln unlöslich war. 1913 erhielt *Lilienfeld*¹⁾ Celluloseäther mit dem höchsten Äthoxygehalt von 2,6 Äthoxygruppen auf C₆. *Heuser* und *Neunstein*²⁾ haben kürzlich eine Trimethylcellulose erhalten, indem sie alkalilösliche Hydrocellulose mit Natronlauge und Dimethylsulfat behandelten.

Nach dem oben erwähnten Patent der Celluloidfabrik Eilenburg wird Cellulose-Glykolsäure folgendermaßen hergestellt:

1. 10 g Cellulose werden mit Wasser befeuchtet und mit einer 30proz. alkoholischen NaOH merzerisiert. Nach Entfernung der überschüssigen NaOH wird eine konzentrierte Lösung von 10 g Monochloressigsäure langsam eingeführt und das Gemisch 36 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehengelassen. Der entstandene Brei wird mit Wasser verdünnt und das Produkt nach Neutralisation durch Alkohol ausgefällt.

2. 200 g merzerisierte Cellulose werden mit 1000 g 20proz. NaOH noch einmal 2 Stunden merzerisiert. Dann wird das 345 g Monochloressigsäure entsprechende Na-Salz in 440 ccm Alkohol suspendiert eingeführt, das Gemisch eine Stunde lang durchgeknetet und stehengelassen, bis es vollkommen wasserlöslich ist. Hiernach wird die Lauge abgepreßt und mit verdünntem Alkohol gewaschen, bis die Salze und Alkalien entfernt sind.

Versuche zeigten, daß man eine 30proz. alkoholische Natronlauge auch beim Zufügen von Wasser nicht in homogener Form erhalten kann. Wenn nach der Merzerisation der Überschuß der Natronlauge weggebracht wird, wird selbst nach längerem Stehen der Mischung die Lösung ebenfalls nicht klar. Nach dem zweiten Verfahren kann vollkommene Lösung des Reaktionsproduktes nicht erreicht werden. Es war deshalb nötig, die Bedingungen der Bildung dieser Verbindung zu untersuchen.

Versuche zur Gewinnung von Celluloseglykolsäureäther.

A. Salze.

Schon einige Vorversuche zeigten, daß die Reaktion bei einem Überschuß von Natronlauge glatt verläuft. Wenn die Mischung von Alkalicellulose und Chloressigsäure neutral oder letztere im Überschuß vorhanden ist, konnte kein wasserlösliches Produkt erhalten werden, wenn auch Temperatur und Zeit verschieden gewählt wurden. Versuche, Natronlauge durch Pyridin zu ersetzen, waren erfolglos. Die

¹⁾ Franz. Patent Nr. 447974, 201, 1913.

²⁾ Cellulosechem. 7, 1922.

Notwendigkeit, einen Überschuß von Natronlauge anzuwenden, erinnert an die Bedingungen der *Schotten-Baumannschen* Reaktion und an die Methylierung von *Denham* und *Woodhouse*.

Die folgenden Bedingungen sind im einzelnen untersucht worden, mit besonderer Rücksicht auf die Ausbeute:

- a) Verhältnis von Wasser und Alkohol in der 30proz. Natronlauge, die in dem oben erwähnten Patent benutzt wurde;
- b) günstigste Konzentration der Natronlauge für die maximale Ausbeute;
- c) Molekularverhältnis von Cellulose : Natronlauge : Chloressigsäure mit Rücksicht auf Ausbeute und COOH-Gehalt des Produktes;
- d) Dauer der Reaktion und günstigste Temperatur.

Um die Ausbeute zu bestimmen, wurde das Produkt nach Beendigung der Reaktion mit Alkohol gefällt und dann ein- oder zweimal mit Alkohol gewaschen. Wenn das Produkt klebrig war, wurde es ein wenig mit absolutem Alkohol angerieben; es läßt sich dann in pulveriger Form erhalten und besser auswaschen. Das Pulver wurde im Soxhlet mit wässerigem Alkohol extrahiert, bis es frei von Natriumhydroxyd und Natriumchlorid war; dies dauerte etwa 15 Stunden. Dann wurde bei 100° im Vakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet und gewogen.

Um die Carboxylgruppe zu bestimmen, wurde das Pulver in Wasser gelöst, 4 bis 5 Stunden zentrifugiert und die so erhaltene klare Lösung im Vakuum eingengt; dann wurde mit 90- bis 96proz. Alkohol gefällt. Nach dem Waschen mit Alkohol war das Reaktionsprodukt vollkommen frei von Chlor und Natriumhydroxyd. Nach dem Trocknen bei 100° über Phosphor-pentoxyd wurde das Natrium als Sulfat bestimmt. Die Resultate der Versuche sind in folgenden Tabellen zusammengefaßt.

Die gemahlene Cellulose wurde 3 Stunden lang mit Natronlauge stehengelassen und dann Chloressigsäure hinzugefügt.

Tabelle I.

Verhältnis von Wasser und Alkohol in der 30proz. Natronlauge.

Nr.	Cellu- lose g	Chlor- essigsäure g	Natronlauge		Dauer der Reaktion Std.	Verhältnis von Alkohol zu Wasser	Ausbeute g	Bemerkung
			g	proz.				
1	2	2	5	13	36	75 : 25	2,6	Laugelösung in 2 Schichten
2	2	2	5	30	36	50 : 50	3,3	
3	2	2	5	30	36	0 : 100	3,2	

Tabelle II.

Konzentration der Natronlauge.

Nr.	Cellulose g	Chlor- essigsäure g	Natronlauge		Dauer der Reaktion Std.	Ausbeute g
			g	proz.		
1	5	5	10	20	48	5,8
2	5	5	10	30	48	6,5
3	5	5	10	40	48	6,8

Tabelle III.

Molekularverhältnis von Cellulose zu Natronlauge zu Chloressigsäure mit Bezug auf Ausbeute und Natriumgehalt.

Nr.	Cellulose g	NaOH g	Chlor- essigsäure g	Molekular- verhältnis	Dauer der Reaktion Std.	Aus- beute g	Gewicht		Natrium Proz.
							Subst. g	Na ₂ SO ₄ g	
1	5	5	9,0	1 : 4 : 3	24	5,5	—	—	—
2	5	5	4,5	1 : 4 : 1,5	24	5,5	0,2495	0,0464	5,92
3	5	15	36,0	1 : 12 : 12	24	6,9	—	—	—
4	5	15	27,0	1 : 12 : 9	24	7,0	0,3580	0,0866	7,70
5	2,5	7,5	4,5	1 : 12 : 3	24	3,0	0,4300	0,0657	4,86
6	2,5	15,0	36,0	1 : 24 : 24	24	3,6	0,4549	0,1146	8,02
7	2,5	15,0	27,0	1 : 24 : 18	24	3,5	0,4503	0,1119	7,91
8	2,5	15,0	18,0	1 : 24 : 12	24	3,2	—	—	—
9	2,5	15,0	4,5	1 : 24 : 3	24	2,7	0,3274	0,0448	4,35

Bei einem Mol Gylkolsäure auf ein

C₆ berechnen sich 9,5 Proz. Natrium

C₁₂ „ „ 5,69 „ „

C₁₈ „ „ 4,06 „ „

Tabelle IV.

Temperatur und Dauer der Reaktion mit Bezug auf die Ausbeute.

Nr.	Cellulose g	NaOH (30 Proz.) g	Chlor- essigsäure g	Dauer der Reaktion	Temperatur	Aus- beute g	Gewicht		Natrium Proz.
							Subst. g	Na ₂ SO ₄ g	
1	2,5	15	27,0	4 Std.	Zimmertemp.	3,1	0,2346	0,0531	7,21
2	2,5	15	27,0	12 „	„	3,5	—	—	—
3	2,5	15	27,0	20 „	„	3,7	0,4041	0,0980	7,72
4	2,5	15	27,0	48 „	„	3,7	—	—	—
5	2,5	15	27,0	6 Tage	„	3,8	0,3212	0,0768	7,61
6	2,5	15	27,0	4 Std.	50° C	3,2	—	—	—
7	2,5	15	27,0	4 „	90° C	3,1	—	—	—

Tabelle V.

Bedingungen der Merzerisation.

Nr.	Lauge- konzentration Proz.	Lösungsmittel	Temperatur	Dauer Std.	Cellulose : NaOH : Chloressigsäure	Lösung in Wasser
1	18	H ₂ O	Zimmertemp.	24	1 : 12 : 9	nicht klar
2	18	„	50—60° C	8	1 : 12 : 9	„
3	30	„	Zimmertemp.	24	1 : 12 : 9	„ klar „
4	30	„	50—60° C	8	1 : 12 : 9	„
5	15	Alkohol, 75 Proz.	Zimmertemp.	24	1 : 12 : 9	nicht „ klar
6	30	50 „	„	24	1 : 12 : 9	klar
7	25	Methylalkohol	„	24	1 : 12 : 9	nicht klar

Aus Tabelle I ergibt sich, daß der Unterschied zwischen 30proz. alkoholischer Natronlauge (50 : 50) und wässriger Natronlauge betreffs der Ausbeute nur sehr gering ist. Ich habe deshalb statt der im Patent angewandten alkoholischen wässrige Natronlauge benutzt.

Tabelle II zeigt, daß mit steigender Konzentration der Natronlauge auch die Ausbeute steigt. In den folgenden Versuchen wurde deshalb 40proz. wässrige Natronlauge benutzt.

Aus Tabelle III ersieht man, daß sowohl die Ausbeute als auch der Gehalt an Glykolsäure steigt, wenn das Verhältnis von Chloressigsäure zu Natronlauge größer wird bis zum Verhältnis 3 : 4. Ein höherer Gehalt an Chloressigsäure hat wenig Einfluß auf die Ausbeute und den Natriumgehalt. Auch das Verhältnis von Natronlauge zu Cellulose scheint von Bedeutung zu sein. So war bei Versuch 1 und 2, wo das Verhältnis von Natronlauge zu Cellulose 4 : 1 war, die Ausbeute nur gering. 12 : 1 scheint das günstigste Verhältnis von Natronlauge zu Cellulose zu sein. Dieses Verhältnis 1 : 12 : 9 bei Versuch 4 ist deshalb angewandt worden. Der Säuregehalt ist gewöhnlich proportional der Ausbeute. Der Natriumgehalt ist kleiner als einem Mol Glykolsäure auf C₆ entspricht.

Tabelle IV lehrt, daß die Temperatur keinen Einfluß auf die Reaktion ausübt. Beim Zufügen der Chloressigsäure und Schütteln der Mischung entwickelt sich immer Wärme, so daß die Temperatur auf 40 bis 50° steigt. Einen Einfluß hat dagegen die Dauer der Reaktion. Nach 20 Stunden jedoch ist die Ausbeute konstant; der Hauptteil der Reaktion ist nach 4 Stunden beendet. Der Natriumgehalt nimmt nur langsam mit der Zeit zu.

Aus Tabelle V ergibt sich, daß konzentriertes Alkali günstiger ist als verdünntes. Alkoholische Natronlauge bietet keinen Vorteil (wie Tabelle I).

Es hat sich auch gezeigt, daß die Merzerisation und die Einwirkung der Chloressigsäure in einer Operation vorgenommen werden kann und nicht in zwei Stufen geschehen muß. Cellulose, in kleine Stückchen zerteilt, wurde mit ihrem eigenen Gewicht an Wasser befeuchtet, im Zerkleinerer behandelt, dann mit 40proz. wässriger Natronlauge bedeckt und 3 Stunden stehengelassen, bevor die Chloressigsäure hinzugefügt wurde.

Darstellung: 10 g feuchte gemahlene Cellulose (= 5 g lufttrockene Cellulose) wurden in einem weithalsigen 500 ccm fassenden Rundkolben mit 38 ccm 40proz. Natronlauge übergossen und 3 Stunden stehengelassen. Dann wurden 20 g Monochloressigsäure langsam unter fortwährendem Rühren hinzugefügt, das Gemisch 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die klare viskose Lösung wurde mit ungefähr 100 ccm Alkohol gefällt. Nach Abfiltrieren des faserigen Produktes wurde es mit wenig absolutem Alkohol angerieben, so in pulveriger Form erhalten, und dann wurde im Soxhlet mit 80proz. Alkohol extrahiert. Nach etwa 16 Stunden waren nur noch Spuren von Natriumchlorid und Natriumhydroxyd in der Substanz vorhanden. Sie wurde nun in wenig Wasser gelöst und zentrifugiert, da die Filtration der viskosen Lösung sehr langwierig ist. Nach fünfständigem Zentrifugieren konnte die klare Lösung bequem filtriert werden. Nun wurde im Vakuum eingeeengt und 500 bis 600 ccm 96proz. Alkohol unter fortwährendem Rühren langsam hinzugefügt, wobei das Produkt als feines Pulver fiel. (War

die Lösung zu verdünnt, so entstand eine trübe Emulsion, die sich schwer filtrieren ließ und nicht zentrifugiert werden konnte.) Das erhaltene Produkt wurde dann mit absolutem Alkohol gewaschen und war nun ganz frei von Natriumhydroxyd und Natriumchlorid. Es wurde bei 105° im Vakuum über Phosphorpentoxyd zur Konstanz getrocknet.

Analyse:

a) Natriumsalz. Um die Reinheit des Ausgangsmaterials zu prüfen, wurde es wiederholt in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt.

1. Fällung.

0,2410 g Substanz	0,0517 g Natriumsulfat,	6,95 Proz. Natrium
0,3487 g „	0,0753 g „	6,99 „ „

2. Fällung.

0,2988 g Substanz	0,0608 g Natriumsulfat,	6,58 Proz. Natrium
0,2908 g „	0,0588 g „	6,55 „ „

3. Fällung.

0,4004 g Substanz	0,0788 g Natriumsulfat,	6,37 Proz. Natrium
0,2138 g „	0,0427 g „	6,47 „ „

4. Fällung.

0,3431 g Substanz	0,0658 g Natriumsulfat,	6,20 Proz. Natrium
0,2160 g „	0,0418 g „	6,27 „ „

Berechnet auf C_6 1 CH_2COOH	9,5	„	„
„ „ C_{12} 1 CH_2COOH	5,69	„	„

b) Kupfersalz. Darstellung: Das Natriumsalz wurde in Wasser gelöst und filtriert. Aus der vollkommen neutralen Lösung wurde das Kupfersalz durch Zufügen eines Überschusses von Kupfersulfat gefällt. Es wurde dann von Schwefelsäure und Salzsäure durch wiederholtes Auswaschen befreit und bei 105° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Das Kupfer wurde als Kupferoxyd bestimmt.

0,3169 g Substanz	0,0378 g Kupferoxyd,	9,53 Proz. Kupfer
0,4639 g „	0,0546 g „	9,41 „ „

Berechnet auf 1 C_6 1 $COOH$	12,68	„	„
„ „ 1 C_{12} 1 $COOH$	7,70	„	„

(6,97 Proz. Natrium sind äquivalent 9,31 Proz. Kupfer.)

c) Silbersalz. Darstellung: Das Silbersalz fiel durch Zufügen von Silbernitrat zur Natriumsalzlösung als käsig Masse aus und war schwierig zu filtrieren. Doch wurde die Filtration wesentlich erleichtert durch Zufügen von Alkohol. Das Salz wurde bei 105° im Vakuum über Phosphorpentoxyd im dunklen Raume getrocknet. Es bräunte sich aber trotzdem etwas.

Analyse:

0,2944 g Substanz	0,0744 g Silber,	25,27 Proz. Silber
0,3628 g „	0,0919 g „	25,33 „ „

Berechnet auf C_6 1 CH_2COOH	33,03 Proz. Silber
„ „ C_{12} 1 CH_2COOH	22,08 „ „

(6,97 Proz. Natrium entsprechen 24,3 Proz. Silber.)

Da der Silberwert höher liegt als der entsprechende Natrium- und Kupferwert, wurde das Silber der zweiten Bestimmung, um eventuelle Verunreinigungen zu entfernen, in Salpetersäure gelöst und nach *Vollhard* titriert.

0,0919 g Silber wurden in wenig konzentrierter Salpetersäure gelöst und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt.

Silberlösung ccm	n/10 Ammonium- Rhodanid ccm	Mittelwert	Silber Proz.
40	27,15	27,20	25,28
40	27,25		

d) Elementaranalyse. Das Natriumsalz der vierten Fällung mit dem Natriumgehalt 6,23 Proz. wurde verbrannt.

Substanz mg	CO ₂ mg	H ₂ O mg	C Proz.	H Proz.	Berechnet für			
					C ₉ -CH ₂ COOH		C ₁₂ -CH ₂ COOH	
					Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
6,340	9,440	3,340	40,62	5,56	C	H	C	H
3,795	5,630	1,885	40,46	5,90	39,67	4,54	41,59	5,20

Das Natriumsalz ist wahrscheinlich ein Gemisch der Verbindungen C₉CH₂COOH und C₁₂CH₂COOH. Die Werte der Natrium- und Kupferbestimmung zeigen, daß weder Verunreinigungen noch unveränderte Cellulose enthalten sind. Wiederholte Fällung des Natriumsalzes gab niedrigere Natriumwerte; das läßt darauf schließen, daß das Produkt vielleicht eine Mischung von Celluloseäthern mit verschiedenem Säuregehalt ist.

Analyse des Produktes der Celluloidfabrik Eilenburg.

Eine Probe der freien Celluloseglykolsäure aus Eilenburg wurde in Natriumsalz verwandelt und in der üblichen Weise gereinigt. Die Analyse gab folgende Resultate:

0,2176 g Substanz 0,0375 g Natriumsulfat, 5,58 Proz. Natrium
0,4621 g „ 0,0786 g „ 5,51 „ „

Dieser etwas niedrige Natriumwert erklärt sich vielleicht aus der geringen Menge von Chloressigsäure im Verhältnis zu Natriumhydroxyd, die bei der Darstellung benutzt wurde. Das stimmt auch mit Tabelle III überein.

Eigenschaften: Das Natriumsalz löst sich in Wasser zu einer sehr viskosen Lösung, die schwach gelb gefärbt ist und sich schwer filtrieren läßt. Beim Füllen mit Alkohol hat es zunächst faserige Struktur. Es ist äußerst hygroskopisch, beim Verdunsten auf einem Uhrglas gibt es einen klaren, zähen Film. Im polarisierten Lichte zeigt es nur eine geringe Drehung.

Polarisation: 1,4205 g Substanz gelöst in 100 ccm Wasser. Rohrlänge 0,2 dm $\alpha_D = -0,08^\circ$ (beobachtet).

$$[\alpha]_D^{19} = \frac{-0,08 \cdot 100}{0,2 \cdot 1,4205} = -28,16^\circ.$$

Kupfer-, Blei-, Eisen-, Aluminium-, Silber- und Zinksalze sind unlöslich. Das Zinksalz ist löslich in einem Überschuß von Zinkchlorid und das Silbersalz löst sich wenig in heißem Wasser.

Versuche, die Menge der gebundenen Glykolsäure zu vermehren.

Tabelle III und IV zeigen, daß bei Veränderung der Reaktionsbedingungen der höchste Glykolsäuregehalt geringer ist als ein Mol auf eine C_6 -Gruppe. Wiederholte Behandlung mit Chloressigsäure jedoch führt zu besseren Resultaten. Viermalige Behandlung ergab $2CH_2COOH$ -Gruppen auf C_6 , und bei sechsmaliger Wiederholung konnte man drei Carboxylgruppen an einen Glucoseresst kuppeln.

Darstellung: 10 g gemahlene feuchte Cellulose (5 g lufttrockene Cellulose) wurden in einem weithalsigen Rundkolben mit 38 ccm 40proz. Natronlauge bedeckt und 3 Stunden stehengelassen, dann wurden unter kräftigem Schütteln 27 g Monochloressigsäure langsam hinzugefügt. Nach kurzem Erwärmen blieb die Mischung über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Nach 20 Stunden wurden nochmals 38 ccm 40proz. Natronlauge zu dem dicken Brei hinzugefügt und nach einstündigem Stehen 27 g Chloressigsäure hinzugegeben. Das wurde insgesamt viermal wiederholt. Das so erhaltene Produkt enthielt $2CH_2COOH$ -Gruppen auf einen Zuckerrest, nach sechsmaliger Wiederholung 3 CH_2COOH -Gruppen auf ein C_6 . Die Tabelle VI gibt Analysen von Proben nach jedesmaliger Behandlung. Eine Probe des Breies wurde immer mit Salzsäure neutralisiert, die Substanz als Kupfersalz gefällt und das Kupfer wie vorher bestimmt. (Wegen des hohen Natriumchloridgehaltes ist eine Natriumbestimmung ungenau.)

Tabelle VI.

Behandlung	Substanz g	CuO g	Cu Proz.	Berechnet
1. Stufe	0,5860	0,0708	9,62	$C_{12}CH_2COOH$ — 7,70 Proz. Cu
2. "	0,3952	0,0673	13,60	C_6CH_2COOH — 12,68 " "
3. "	0,3750	0,0794	16,92	$C_6(CH_2COOH)_2$ — 18,73 " "
4. "	0,2259	0,0614	19,47	$C_6(CH_2COOH)_3$ — 22,27 " "
5. "	0,1584	0,0401	20,22	
6. "	0,4302	0,1201	22,30	
7. "	0,3970	0,1103	22,19	

Nach der vierten Behandlung wurde etwa die Hälfte der viskosen Lösung mit Alkohol gefällt. Selbst nach längerer Extraktion konnte die Fällung nicht ganz von Natriumchlorid befreit werden. Sie wurde deshalb in Wasser gelöst und erst 24 Stunden in fließendem Wasser und dann in destilliertem Wasser dialysiert, bis sie vollständig chlorfrei war. Die so erhaltene Lösung wurde im Vakuum eingengt und mit 96proz. Alkohol gefällt. Nach dem Trocknen wurde der Natriumgehalt von der ersten und zweiten Fällung bestimmt.

1. Fällung.

0,3229 g Substanz 0,1451 g Natriumsulfat, 14,55 Proz. Natrium

2. Fällung.

0,3666 g Substanz 0,1511 g Natriumsulfat, 13,12 Proz. Natrium

Berechnet auf $C_6(CH_2COOH)_2$ 14,29 „ „

Der Unterschied zwischen der ersten und zweiten Fällung zeigt an, daß das Produkt keine reine Substanz ist, sondern ein Gemisch von Stoffen mit verschiedenem Glykolsäuregehalt.

Eigenschaften: Die Lösung ist viskos, aber nicht so stark wie die der Verbindung mit dem geringeren CH_2COOH -Gehalt; sie ist ganz farblos und gibt beim Eintrocknen einen klaren Film. Die Lösung ist trübe und klärt sich beim Zufügen von Salpeter- und Essigsäure. Im Ultramikroskop zeigen sich nur wenig Teilchen mit *Brownscher* Bewegung. Die optische Drehung konnte wegen der Trübung der Lösung nicht beobachtet werden. Außer den Kupfer-, Blei-, Eisen-, Aluminium- und Silbersalzen sind hier auch die Calcium-, Barium-, Mangan- und Zinksalze unlöslich. Das Gemisch der Verbindungen von höherem und niedrigerem $COOH$ -Gehalt konnte deshalb durch das Calcium- oder Bariumsalz getrennt werden. Das Zinksalz ist nur wenig löslich im Überschuß von Zinkchlorid.

Der zweite Teil des siebenmal behandelten Produktes (Tabelle VI) wurde in gleicher Weise durch Dialyse gereinigt, ohne irgendwelche Extraktion. Nach Konzentration wurde das Natriumsalz gefällt und wie vorher bestimmt.

1. Fällung.

0,2313 g Substanz 0,1295 g Na_2SO_4 , 17,81 Proz. Natrium

2. Fällung.

0,4040 g Substanz 0,2253 g Na_2SO_4 , 17,75 Proz. Natrium

Berechnet auf $C_6(CH_2COOH)_2$. . . 17,88 „ „

Eigenschaften: Wie die Substanz mit $2CH_2COOH$ -Gruppen ist auch die Lösung dieser in Wasser trübe und bildet unlösliche Calcium- und Bariumsalze. Das Natriumsalz ist nach der Fällung mit Alkohol noch faserig. Beim Verdunsten gibt es einen klaren Film.

B. Freie Säure.

Die freie Säure aus dem Natriumsalz ist von der Celluloidfabrik Eilenburg durch Ansäuern des Natriumsalzes hergestellt worden und soll in faseriger Form ausfallen. Bei der Analyse der freien Säure (aus Eilenburg) zeigte sich, daß die Substanz 10 Proz. Asche enthält. Die Analyse des Natriumsalzes gab nach dem Reinigen ungefähr 1 Mol CH_2COOH auf 1 Mol C_{12} , wie schon oben angegeben.

Darstellung: Das durch einmalige Behandlung mit Chloressigsäure erhaltene Natriumsalz wurde mit verdünnter Salpetersäure angesäuert. Die Lösung war zuerst viskos und wurde dann dünnflüssig. Nach etwa einer Stunde wurde die freie Säure durch Zufügen eines Überschusses von Alkohol als weißer flockiger Niederschlag gefällt, der sich nur langsam filtrieren läßt. Bequemer kann man die Säure isolieren, indem man zentrifugiert und darauf mit Alkohol auswäscht, bis das Produkt frei von Salpetersäure ist. Beim Waschen mit absolutem Alkohol bildet es dann ein weißes Pulver.

Eigenschaften: Die freie Säure ist äußerst hygroskopisch; es dauert etwa 20 Stunden, bis sie im Vakuum bei 105° über Phosphor-pentoxyd bis zur Konstanz getrocknet ist. Wenn sie noch feucht ist, löst sie sich in Wasser; einmal getrocknet, ist sie aber unlöslich in Wasser und in organischen Lösungsmitteln. Sie löst sich dann nur in verdünnter Natronlauge.

Die Carboxylgruppe kann bestimmt werden durch Lösen der Substanz in Natronlauge und Zurücktitrieren des Überschusses der Natronlauge. Das zur Herstellung der Säure benutzte Natriumsalz wurde durch einmalige Behandlung mit Chloressigsäure dargestellt, zweimal gefällt und dann der Natriumgehalt bestimmt.

0,3258 g Substanz 0,0605 g Na_2SO_4 , 5,91 Proz. Natrium

Berechnet auf $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_{10}\text{CH}_2\text{COOH}$. . . 5,69 „ „

Das Natriumsalz enthält also etwa 1 CH_2COOH auf 1 C_{12} .

Analyse:

1. Titration.

Substanz g	Zugefügtes n/10 NaOH ccm	n/10 HCl ccm	Gebrauchtes n/10 NaOH ccm	CO Proz.	Berechnetes CO Proz.
0,2816	9,50	1,62	7,88	7,83	7,69
0,3251	15,00	6,30	8,70	7,50	—

Der Wert von CO berechnet unter der Voraussetzung, daß die Substanz als Lacton vorliegt ($\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{CH}_2\text{COOH}-\text{H}_2\text{O}$).

2. Aschebestimmung.

Substanz g	Asche g	Prozentgehalt
0,4638	0,0012	0,26
0,7998	0,0017	0,21

3. Elementaranalyse.

Substanz mg	CO_2 mg	H_2O mg	C Proz.	H Proz.
5,57	9,410	2,990	46,09	6,01
4,890	9,230	2,570	45,91	5,84

Berechnet für:

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_{10}\text{CH}_2\text{COOH}$ freie Säure 43,98 5,76 Proz.

$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_{10}\text{CH}_2\text{COOH}-\text{H}_2\text{O}$ Lacton 46,16 5,50 „

$(\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_{10}\text{CH}_2\text{COOH})_2-\text{H}_2\text{O}$ Anhydrid . . 45,04 5,63 „

Der Aschewert zeigt, daß das Material fast rein ist. Der Prozentgehalt von Kohlenstoff und Wasserstoff stimmt auf die Formel eines Lactons¹⁾. Das stimmt überein mit der Titration. Die Lactonbildung scheint beim

¹⁾ Nachdem dies festgestellt war, erschien die neue Auflage von Heuser, Cellulosechemie, in welcher vom Entdecker die Vermutung ausgesprochen wird, daß die Verbindung als Lacton vorliegt.

Trocknen vor sich zu gehen, denn ein feuchtes, frisch vorbereitetes Präparat löst sich wieder in Wasser, während es, einmal trocken, nicht mehr in Lösung zu bringen ist. Versuche, nachzuweisen, ob die Lactonbildung auch im feuchten Zustande vor sich geht, ergaben ein negatives Resultat. Eine wässrige Lösung von Natriumsalz wurde angesäuert und dann titriert: 1. in der Kälte, 2. nach einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbade. Die zurücktitrierte Säure gab in beiden Fällen gleiche Werte.

Celluloseglykolsäure mit mehr als einem Carboxyl in einem Zuckerrest.

Versuche, die freie Säure durch Ansäuern der wässrigen Lösung dieses Natriumsalzes mit verdünnter Salpetersäure und darauf folgendes Zufügen von Alkohol zu erhalten, waren im Gegensatz zu den Säuren mit geringerem Carboxylgehalt vergeblich. Es konnte auf diese Weise kein Niederschlag gewonnen werden. Die Natriumsalzlösung wurde deshalb nur mit Salpetersäure angesäuert und dialysiert. Der in der Hülse verbleibende Rückstand enthielt aber Natriumsalz und nur Spuren freier Säure. Ein dritter Anteil des Natriumsalzes wurde genau neutralisiert und die Säure mit Kupfersulfat als Kupfersalz gefällt. Nach Auswaschen des Niederschlages wurde es mit Schwefelwasserstoff versetzt. Das Kupfersulfid bildete eine kolloidale Lösung, die erst nach Erhitzen mit 2 Proz. Adsorptionskohle klar filtriert werden konnte. Beim Eindunsten der Lösung auf dem Wasserbade bis zur Trockne erhielt man die freie Säure, aber nur in geringer Ausbeute, und auch diese war unrein. Sie war durch Spuren von Kupfersalz grün gefärbt. In Wasser löste sie sich schwer, aber leicht in Natronlauge. Wegen der Unreinheit wurde auf die Analyse verzichtet.

Spaltungsversuche. Versuche, die Celluloseglykolsäure zu spalten, sind nach zwei Richtungen gemacht worden. Es ist versucht worden, 1. Cellulose einerseits und Glykolsäure andererseits zu spalten und 2. zu Glucoseglykolsäure zu hydrolysieren. Die Versuche in der zuletzt genannten Richtung haben zu keinem Ergebnis geführt.

*Denham*¹⁾ hat bei der Hydrolyse von Trimethylcellulose nur 2, 3, 6-Trimethylglucose erhalten. *Irvine*²⁾ hat daraus Schlüsse auf die Konstitution der Cellulose gezogen und auch die für den Elementarkörper der Cellulose vorgeschlagenen Formeln von diesem Gesichtspunkte aus beurteilt. Nach ihm verlieren die von *Cross* und *Bevan*, *Green*, *Vignon*, *Pictet* und *Karrer* angegebenen Formeln ihre Berechtigung, während die Anhydrocellobioseformel von *Pringsheim* wahrscheinlicher wird.

Spaltungsversuch mit PI_3 und H_2O^3). Die Lösung der Substanz in Wasser wurde zu PI_3 gefügt und nach einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbade destilliert. Im Destillat wurde Essigsäure, im Rückstand nach Extraktion des bei der Neutralisation gebildeten Bariumjodids mit Alkohol Glykolsäure nachgewiesen. Die Ätherverbindung der Celluloseglykolsäure ist also gespalten und dabei Glykolsäure freigemacht worden.

¹⁾ Journ. Chem. Soc. London 119, 1920. — ²⁾ Address to the British Association. Hull 1922. — ³⁾ *Heintz*, Ann. d. Phys. 114, 475.

Es wurde auf verschiedenen Wegen mit negativem Ergebnis versucht, Ester der Celluloseglykolsäure zu gewinnen, dagegen konnten *gemischte Methyläther und Ester der Celluloseglykolsäure* erhalten werden.

Beim wiederholten Methylieren des Natriumsalzes ($1\frac{1}{2}$ CH_2COOH auf ein C_{12}) mit Dimethylsulfat und Natronlauge konnten Methylgruppen in die OH-Gruppen der Cellulose und etwa zwei Drittel der Carboxylgruppen eingeführt werden. Das erhaltene Produkt war in der Kälte löslich, aber unlöslich in heißem Wasser, und konnte so gereinigt werden.

Darstellung: 3,5 g celluloseglykolsaures Natrium (Na-Gehalt 6,97 Proz., $1\frac{1}{2}$ CH_2COOH auf C_{12}) wurden mit 20 ccm Wasser in einem 500-ccm-Rundkolben geschüttelt, bis eine homogene Masse entstanden war. Dann wurden 25 ccm 50proz. Natronlauge zugefügt, gut geschüttelt und nach zweistündigem Stehen tropfenweise Dimethylsulfat wieder unter kräftigem Schütteln hinzugefügt, bis die Lösung schwach sauer war. Um Überhitzung und Schaumbildung zu vermeiden, wurde das Dimethylsulfat nur sehr langsam hinzugefügt. Nach Beendigung der Reaktion wurde 15 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und nach dem Abkühlen von neuem 20 ccm 40proz. Natronlauge und Dimethylsulfat wie vorher hinzugefügt. Auf dem Boden des Kolbens sammelten sich jetzt schon geringe Mengen einer pulvrigen Substanz. Nach dem Erhitzen wurde dieser Prozeß ein drittes und viertes Mal wiederholt. Der entstandene Niederschlag hatte sich vermehrt, da das gebildete Natriumsulfat die Celluloseverbindung aussalzt. Diese wurde in einem Heißwassertrichter filtriert und mit wenig kochendem Wasser gewaschen. Ausbeute 2,5 g = 75,7 Proz. des ursprünglichen Natriumsalzes. Das Produkt enthielt jedoch Natriumsulfat, von dem es durch Lösen in kaltem Wasser, aus dem es beim Erhitzen wieder ausfällt, befreit wurde. Nach dem Trocknen wurden die Methoxylgruppen nach *Zeisel* bestimmt.

4,440 mg Substanz 11,180 mg AgI, 33,27 Proz. OCH_3 ,

4,670 „ „ 11,640 „ „ 32,93 „ „

Bei vollkommener Methylierung berechnet sich insgesamt 37,58 Proz. OCH_3 .

Eine Probe der Substanz wurde in kaltem Wasser gelöst und mit n/10 Natronlauge titriert, um die freien COOH -Gruppen zu bestimmen. Dann wurde ein Überschuß von Natronlauge zugefügt, eine Stunde auf dem Wasserbade erhitzt und die Natronlauge mit n/10 Schwefelsäure zurücktitriert. So ergab sich der Wert der gesamten COOH -Gruppen. Aus der Differenz errechnet sich die Menge des entstandenen Esters.

Substanz g	n/10 NaOH (Kälte) ccm	Freie COOH Proz.	Gesamte $\frac{1}{10}$ NaOH ccm	Gesamte COOH Proz.
0,1280	1,52	5,34	3,40	11,96
0,1639	1,84	5,05	4,45	12,22

Die Substanz entspricht einem Gemisch von etwa 7 Teilen Methylester und 5 Teilen freier Säure; für ein solches berechnet sich:

OCH_3 34,94 Proz. (gefunden 33,10 Proz.)
 Freie COOH 5,76 „ („ 5,20 „)
 Gesamte COOH 13,88 „ („ 12,10 „)

Versuche, die freie Säure als unlösliches Salz zu entfernen, blieben ohne Erfolg. Auch nach der Verseifung des Esters bildete sich kein unlösliches Salz. Das erscheint auffällig, da die freie Säure vor der Methylierung solch unlösliche Salze gibt.

II. Versuche zur Gewinnung anderer Celluloseoxysäureäther.

A. Cellulosemilchsäureäther.

Durch Einwirkung von Homologen der Chloressigsäure konnten gemäß der Patentangabe ähnliche Verbindungen erhalten werden. So wurde Chlorpropionsäure unter gleichen Bedingungen angewandt, aber nur eine geringe Ausbeute des noch nicht beschriebenen Cellulosemilchsäureäthers erhalten. Es wurden mehrere Versuche unter verschiedenen Bedingungen gemacht, um eine geeignete Darstellungsweise des Milchsäureäthers zu finden.

Tabelle VII.

Nr.	Cellulose g	Chlorpropionsäure g	NaOH-Konzentration Proz.	NaOH g	Zeit	Temperatur	Bemerkungen
1	2	10	30	6	48 Std.	Zimmertemp.	viel unlösliches
2	2	10	15	6	48 "	"	" "
3	2	10	45	6	48 "	"	" "
4	2	10	30	6	1 Woche	"	weniger unlösliches
5	2	10	30	6	72 Std.	"	viel unlösliches
			Alkohol				
6	2	15	30	10	16 "	50°	" "
7	2	10	30	6	3 Wochen	Zimmertemp.	weniger unlösliches

Wie man aus der Tabelle ersieht, konnte in keinem Falle vollkommene Lösung der Cellulose erhalten werden. Aus Versuch 4 folgt, daß Chlorpropionsäure langsamer einwirkt als Chloressigsäure. Es wurde versucht, durch kräftiges Reiben in einer Reibschale die Reaktion zu fördern. Die Lösung wurde wohl etwas klarer, aber nicht vollständig. Cellulose, mit 30proz. Natronlauge merzerisiert, gab auch keine besseren Resultate.

Cellulosemilchsäures Natrium: 10 g feuchte gemahlene Cellulose (5 g lufttrockene Cellulose) wurden in einem Mörser mit 40 ccm 40proz. Natronlauge über Nacht stehengelassen. Dann wurden 30 g chlorpropionsäures Äthyl langsam unter fortwährendem Reiben hinzugegeben, die Masse in eine Stöpselflasche gebracht, 3 Stunden geschüttelt und schließlich 48 Stunden stehengelassen. Zu der gallertartigen Masse wurden 100 ccm Alkohol zugefügt und das Produkt abgesaugt. Zum Schluß wurde im Soxhlet mit Alkohol extrahiert, bis Chlor und NaOH entfernt waren. Zur Reinigung wurde das Salz in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt wie vorher; nach dem Waschen mit absolutem Alkohol im Vakuum bei 105° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Natriumbestimmung:

0,1895 g Substanz 0,0246 g Na_2SO_4 , 4,21 Proz. Natrium
 Berechnet 1 Mol Milchsäure auf C_{12} . 5,52 " "
 " 1 " " " C_{18} . 4,06 " "

Kupfersalz: Das Kupfersalz wurde aus der wässrigen Lösung des Natriumsalzes mit Kupfersulfat gefällt, zur Sulfatfreiheit gewaschen und bei 105° über Pentoxyd getrocknet.

Kupferbestimmung:

0,0481 g Substanz	0,0035 g Kupferoxyd,	5,82 Proz. Cu
0,2354 g „	0,0167 g „	5,68 „ Cu
Berechnet 1 Mol Milchsäure auf C ₁₂ .	7,45 „	Cu
„ 1 „ „ „ C ₁₈ .	5,53 „	Cu

Die Lösung des Natriumsalzes in Wasser ist gelb und kann mit Alkohol gefällt werden. Diese Lösung ist aber nicht so viskos, wie die der Glykolsäureverbindung. Sie gibt unlösliche Kupfer-, Eisen- und Bleisalze. Das Natriumsalz ist wie das der Glykolsäureverbindungen hygroskopisch.

Die *freie Cellulosemilchsäure* wurde aus dem Natriumsalz durch Ansäuern mit verdünnter Salpetersäure und darauf folgender Fällung erhalten. Beim Zufügen der verdünnten Salpetersäure wurde die Lösung zuerst sehr viskos, dann aber wieder flüssiger. Nach Zugabe eines Überschusses von Alkohol wurde zentrifugiert, die freie Säure auf ein Filter gebracht und mit Alkohol bis zur Entfernung der Salpetersäure ausgewaschen. Dann wurde mit absolutem Alkohol gewaschen und schließlich wie vorher getrocknet.

Die getrocknete Substanz wurde in normaler Natronlauge gelöst und der Überschuß zurücktitriert.

Substanz g	n/10 NaOH verbraucht ccm	COOH Proz.
0,2122	3,97	8,45
0,3071	6,05	8,85

Berechnet 1 Mol Milchsäure auf C₁₈ = 8,06 Proz. COOH.

Elementaranalyse:

Substanz mg	CO ₂ mg	H ₂ O mg	C Proz.	H Proz.
5,045	8,210	2,730	44,40	6,06
5,780	9,420	3,250	44,46	6,29

Berechnet 1 Mol Milchsäure auf C₁₈ freie Säure 45,16 Proz. C, 6,09 Proz. H.

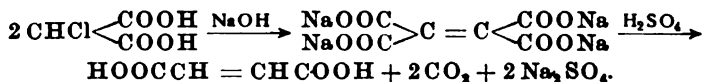
Berechnet 1 Mol Milchsäure auf C₁₈ Lacton 46,69 Proz. C, 5,93 Proz. H.

Die freie Säure wurde als gelbbraunes Pulver erhalten, das sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln unlöslich ist. Das frische feuchte Präparat löst sich wieder in Wasser.

Versuche zur Darstellung eines Cellulosetartronsäureäthers.

Versuche, durch Einwirkung von Chlormalonsäure auf Cellulose ein ähnliches Produkt zu erhalten, waren ohne Erfolg, trotzdem die Bedingungen sowohl der Merzerisation als auch der Einwirkung der Chlormalonsäure sehr weitgehend variiert wurden.

Bei Benutzung von *Brommalonsäure* war das Resultat das gleiche. Bei einem Überschuß von Alkali bildete sich eine geringe Menge eines wasserlöslichen Produktes, das unlösliche Eisen- und Kupfersalze gibt. Die Ausbeute war aber so gering, daß auf eine Analyse verzichtet werden mußte. Beim Fällen der wässrigen Lösung mit Alkohol fiel ein kristallinischer Niederschlag, der in Wasser gelöst wurde und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert wurde. Dabei entwich Kohlensäure. Nach Extraktion der Substanz mit Äther und Umkristallisation aus Alkohol konnte das Produkt als *Maleinsäure* identifiziert werden. Offenbar ist die Umsetzung nach folgender Gleichung vor sich gegangen¹⁾:



Jedenfalls ist die Reaktionsgeschwindigkeit dieser Nebenreaktion größer als die der Ätherbildung.

III. Stärkeäther.

A. Stärkeglykolsaures Natrium.

*Karrer*²⁾ sowie *Denham* und *Woodhouse*³⁾ erhielten bei der Methylierung der Stärke ein Produkt, das auf einen Glucoserest zwei Methylgruppen enthielt. In die dritte Hydroxylgruppe konnten sie kein Methyl einführen. Später jedoch gelang es *Irvine* und *Macdonald*⁴⁾, in drei Glucosereste sieben Methylreste einzuführen, woraus sie wichtige Schlüsse auf die Konstitution der Stärke zogen.

In Analogie zur Darstellung des Celluloseglykolsäureäthers wurde Stärke wiederholt mit Natronlauge und Chloressigsäure behandelt. Nach der ersten Behandlung erhielt ich einen Stärkeglykolsäureäther mit etwa einem Mol Glykolsäure auf eine Glucosegruppe, nach der zweiten Behandlung zwei Carboxyl auf C₆ und nach der dritten Behandlung blieb der Carboxylgehalt praktisch konstant. Das stimmt überein mit den Erfahrungen von *Karrer* und *Woodhouse*.

Im Gegensatz zur Alkalicellulose ist die Natronstärke wasserlöslich, deshalb muß die wasserlösliche Stärkeglykolsäure von der Natronstärke und anderen Natriumsalzen durch Fällen als Kupfersalz befreit werden. Nach gutem Auswaschen wurde das Kupfer als Kupferoxyd bestimmt.

Darstellung: 5 g Kartoffelstärke wurden in einem 500-ccm-Rundkolben mit 20 ccm Wasser so lange geschüttelt, bis eine homogene Masse entstanden war. Dann wurden 40 ccm 50proz. wässriger Natronlauge unter fortwährendem Schütteln langsam hinzugefügt und die Mischung 2 Stunden stehengelassen. Nur zuweilen wurde etwas ge-

¹⁾ *Conrad Gutzzeit*, A. 214, 76.

²⁾ *Helvetica Chim. acta* 3, 620, 1920; 4, 185, 1921.

³⁾ *Journ. Chem. Soc. London* 103, 1735, 1913; 105, 2357, 1914.

⁴⁾ Address to the British Association in Hull 1922.

schüttelt, um das Gemisch homogen zu erhalten. Dann wurden 30 g feste Monochloressigsäure wieder unter Schütteln zu dem Gemisch gebracht. Beim Lösen der Chloressigsäure entwickelte sich Wärme, so daß die Temperatur auf 40 bis 50° stieg. Beim Stehen über Nacht bildete sich ein klarer, sehr viskoser Brei und beim Zufügen von Alkohol zur Lösung fiel das Natriumsalz als klebriges Produkt aus, das nach dem Trocknen hart und steinig wurde. Durch längeres Reiben im Mörser, erst mit 96proz., dann mit absolutem Alkohol, konnte es als weißes Pulver erhalten werden. Dieses wurde im Soxhlet 20 Stunden mit 80proz. Alkohol extrahiert, aber es war nicht möglich, das gesamte Natriumhydroxyd und Natriumchlorid zu entfernen. Eine Probe des ursprünglichen Breies wurde deshalb in Wasser gelöst und durch Zufügen eines Überschusses von Kupfersulfat stärkerglykolsaures Kupfer gefällt. Dies wurde von Schwefelsäure und Salzsäure rein gewaschen, bei 105° getrocknet und das Kupfer als Kupferoxyd bestimmt.

0,3273 g Substanz	0,0575 g Kupferoxyd,	14,03 Proz. Kupfer
0,5049 g „	0,0882 g „	13,69 „ „
Berechnet 1 Mol Glykolsäure auf C ₆	. . 12,68 „	„
„ 2 „	„ C ₆	. . 18,73 „ „

Der ursprüngliche Brei, der das Natriumsalz enthält, wurde durch Dialyse gereinigt und die Lösung nach Konzentration im Vakuum mit Alkohol gefällt. Das Natriumsalz wurde mit absolutem Alkohol gewaschen, bei 105° im Vakuum getrocknet und dann das Natrium bestimmt.

0,2121 g Substanz	0,0745 g Na ₂ SO ₄ ,	11,18 Proz. Natrium
Berechnet 1 Mol Glykolsäure auf C ₆	. . 9,5 „	„
„ 2 „	„ C ₆	. . 14,29 „ „

Elementaranalyse:

Substanz mg	CO ₂ mg	H ₂ O mg	C Proz.	H Proz.
4,047	5,725	1,830	38,61	5,06
4,490	6,305	2,040	38,31	5,08

Berechnet für C ₆ H ₉ O ₅ CH ₂ COONa	 39,67	4,55 Proz.
„ „ C ₆ H ₈ O ₅ (CH ₂ COONa) ₂	 37,27	3,73 „

Das vorliegende Produkt ist also ein Gemisch von Mono- und Diglykolsäureäther der Stärke. Der gefundene zu hohe Wassergehalt läßt sich daraus erklären, daß die Substanz äußerst hygroskopisch ist.

Das Natriumsalz ist in Wasser leicht löslich und in organischen Lösungsmitteln unlöslich. Es reduziert *Fehlingsche* Lösung nicht und färbt sich mit Jodlösung violett. Mit Eisen-, Kupfer-, Silber-, Blei- und Aluminiumsalzen gibt es unlösliche Salze, während die Salze der Erdalkalimetalle löslich sind. Trotz der Viskosität der Lösung kann sie ohne große Schwierigkeit filtriert werden.

Stärkeglykolsaures Natrium mit höherem Carboxylgehalt.

Wie schon erwähnt, kann man durch wiederholte Behandlung der Stärke mit Natronlauge und Chloressigsäure ein Produkt mit zwei Carboxylgruppen auf einen Glucoseresst erhalten. Die erste Behandlung der Stärke wurde nach der schon angegebenen Beschreibung ausgeführt.

Zu der sich bildenden viskosen Lösung wurden dann 38 cem 30proz. Natronlauge hinzugefügt und das Gemisch 2 Stunden stehengelassen. Dann wurden unter kräftigem Schütteln langsam 27 g feste Chloressigsäure dazu gebracht. Nach kurzem Erwärmen der Mischung auf dem Wasserbade blieb sie über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Diese Behandlung wurde noch ein drittes Mal wiederholt. Nach jeder neuen Einwirkung der Chloressigsäure wurde eine Probe entnommen, neutralisiert, mit Kupfersulfat gefällt und die Säuregruppe aus dem Kupfergehalt bestimmt. Nach der zweiten Behandlung blieb der Säuregehalt konstant, wie Tabelle VIII zeigt.

Tabelle VIII.

	Substanz g	Cu O g	Cu Proz.
1. Behandlung . .	0,3241	0,0575	14,18
2. " "	0,5143	0,1172	18,29
3. " "	0,7360	0,1700	18,45

Berechnet 1 CH_2COOH auf C_6 12,68 Proz. Cu

„ 2 CH_2COOH „ C_6 18,73 „ Cu

Es können also nur zwei Carboxylgruppen, und zwar schon im Laufe von zwei Behandlungen eingeführt werden. Eine weitere Behandlung hat wenig Einfluß auf die Zahl der Carboxylgruppen.

Um das reine Natriumsalz zu erhalten, wurde die viskose Lösung nach Verdünnung mit Wasser (nach der dritten Behandlung) in einem Pergamentschlauch bis zur Chlorfreiheit dialysiert. Die gereinigte Natriumsalzlösung wurde dann im Vakuum eingengt und mit 96proz. Alkohol gefällt. Nach Filtration wurde mit absolutem Alkohol gewaschen. So erhielt man ein weißes Pulver, das, wie üblich, im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet wurde.

Natriumbestimmung:

0,2037 g Substanz 0,0886 g Na_2SO_4 , 14,08 Proz. Natrium

Berechnet 2 CH_2COOH auf C_6 14,29 „ „

Das so erhaltene Natriumsalz ist ein weißes amorphes Pulver, das sich in Wasser mit etwas milchiger Trübung löst, seine optische Drehung konnte deshalb nicht bestimmt werden. Durch Zusatz von wenig verdünnter Salpeter- oder Essigsäure wurde die Lösung klar, während mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure sich ein geringer Niederschlag bildet, der in einem Überschuß von Wasser löslich ist und beim Erhitzen mit verdünnter Säure verschwindet. *Fehlingsche Lösung* wird nicht reduziert. Interessant ist die Einwirkung von Jodlösung auf diese Verbindungen. Während Stärke mit Jodlösung eine tief-

blaue Färbung gibt, färbt sich die Verbindung mit 1 Mol Glykolsäure auf ein C_6 bei Zusatz einer Jodlösung nur violett, und das Gemisch der Verbindung von 2 Mol Glykolsäure auf ein C_6 mit Jodlösung zeigt nur eine gelbe Farbe, wie die ursprüngliche Jodlösung.

Die Ca-, Ba-, Sr-, Mn-, Zn-, Pb-, Fe-, Al-, Ag- und Cu-Salze der Verbindung mit 2 Mol Glykolsäure auf ein C_6 sind unlöslich, während die Erdalkali- und Mangansalze der Verbindung mit geringem Säuregehalt löslich sind.

B. Freie Stärkeglykolsäure.

Die Darstellung der freien Säure bot besondere Schwierigkeiten. Das Verfahren der entsprechenden Celluloseverbindung durch Ansäuern des Natriumsalzes und Fällen der freien Säure mit Alkohol konnte hier nicht angewandt werden, da unveränderte Natriumstärke mitgefällt würde. Auch das Zersetzen des Kupfersalzes mit Schwefelwasserstoff war nicht möglich, da die freie Säure in Wasser unlöslich ist. Es gelang deshalb nur durch wiederholtes Anreiben des Kupfersalzes mit verdünnter Salpetersäure, die freie Säure zu erhalten, wobei das Kupfer nach und nach in Lösung ging und die freie Säure in gallertiger Form zurückließ. Schließlich wurde mit Alkohol, der mit etwas Salpetersäure angesäuert war, gewaschen und tüchtig im Mörser verrieben. Nach etwa 20- bis 25maligem Waschen konnte die Säure ganz frei von Kupfer erhalten werden. Dann wurde sie mit absolutem Alkohol gewaschen und so in pulveriger Form erhalten. Die freie Säure ist sehr hygroskopisch, es dauerte ungefähr 20 Stunden, bis sie vollkommen trocken war (105° Vakuum über Phosphorpentoxyd).

Analyse:

Aschenbestimmung: 0,3216 g Substanz gaben 0,0011 g Asche = 0,34 Proz.

Säurebestimmung: Die Substanz wurde in einem Überschuß normaler Natronlauge gelöst, die gleiche Menge n Schwefelsäure hinzugefügt und der Überschuß der Schwefelsäure mit Natronlauge titriert.

Substanz g	n/10 NaOH verbraucht ccm	COOH Proz.
0,2213	10,48	21,30
0,3115	15,20	21,95

Berechnet 1 Mol Glykolsäure auf C_6 als freie Säure 20,45 Proz., als Lacton 22,28 Proz.

Elementaranalyse:

Substanz mg	CO ₂ mg	H ₂ O mg	C Proz.	H Proz.
5,170	8,540	2,380	45,06	5,15
4,880	8,010	2,360	44,78	5,41

Berechnet für 1 CH_2COOH auf C_6 als freie Säure 43,64 Proz. C,
 5,45 Proz. H
 Berechnet für 1 CH_2COOH auf C_6 als Lacton 47,53 Proz. C, 4,95 Proz. H
 Berechnet für 2 CH_2COOH auf C_6 als freie Säure 43,17 Proz. C,
 5,04 Proz. H.

Nach dieser Analyse scheint es, daß im Gegensatz zu der entsprechenden Celluloseverbindung nicht das gesamte Carboxyl im Stärkemolekül in Lactonform vorhanden ist, sondern hier ein Gemisch von freier Säure und Lacton vorliegt.

Die freie Säure ist ein weißes Pulver, das sowohl in Wasser als in organischen Lösungsmitteln unlöslich ist, aber leicht löslich in verdünnter Natronlauge. Durch Alkohol läßt sie sich aus der alkalischen Lösung als Na-Salz ausfällen. Wie die Celluloseverbindung, ist sie äußerst hygroskopisch. Sie reduziert *Fehlingsche* Lösung nicht und gibt mit Jodlösung eine Violettfärbung.

Spaltungsversuche. Es wurden Versuche gemacht, stärkediglykolsaures Natrium durch Enzyme zu spalten. Weder Diastase, noch Hefe, noch Pankreatin bewirkten irgend einen Abbau, denn *Fehlingsche* Lösung wurde nach wie vor der Behandlung nicht reduziert. Das stimmt überein mit der Beobachtung von *Karrer* und *Nägeli*¹⁾, die Methylstärke weder mit Diastase noch Ptyalin, noch *Bacillus macerans* spalten konnten.

C. Gemischter Methyl- und Glykolsäureäther der Stärke.

Ebenso wie der Celluloseglykolsäureäther konnte der Stärkeglykolsäureäther ($\frac{2}{3}$ Mol Glykolsäure auf C_6) durch wiederholte Behandlung mit Dimethylsulfat und Natronlauge methyliert werden. Die unbesetzten Hydroxylgruppen der Stärke wurden veräthert, während die Carboxylgruppe der Glykolsäure, im Gegensatz zu der entsprechenden Celluloseverbindung, nicht methyliert wurde. Durch viermalige Wiederholung der Methylierung konnten $1\frac{2}{3}$ Mol Methylradikal eingeführt werden, so daß insgesamt $2\frac{1}{3}$ OH-Gruppen der Stärke durch Methyl- und Glykolsäure substituiert waren. Das stimmt überein mit der schon erwähnten Beobachtung von *Irvine* und *Macdonald*²⁾.

Darstellung: In einem Rundkolben von 500 ccm Inhalt wurden 5 g stärkeglykolsaures Natrium (Cu-Salz 9,72 Proz. Cu; berechnet $\frac{2}{3}$ Mol Glykolsäure auf C_6 9,59 Proz. Cu) unter dauerndem Schütteln zu 75 ccm Wasser gefügt und zu der homogenen Masse schließlich 40 ccm 50proz. Natronlauge gegossen. Nach einer halben Stunde wurde unter fortwährendem Schütteln so lange langsam Dimethylsulfat zugegeben, bis die Mischung schwach sauer reagierte. Dann wurde eine Viertelstunde auf dem Wasserbade erwärmt und die Methylierung in gleicher Weise noch dreimal wiederholt, genau wie bei der entsprechenden Celluloseverbindung.

Bei der dritten und vierten Methylierung begann das Natriumsulfat auszukristallisieren. Da die dicke Lösung schwer zu filtrieren war und der

¹⁾ Helvetica Chim. acta 4, 191, 1921.

²⁾ Address to the British Association Hull 1922.

gemischte Äther nicht wie bei der entsprechenden Celluloseverbindung in der Hitze ausfiel, konnte das Natriumsulfat und die überschüssige Säure nur durch Dialyse entfernt werden. Das dauerte etwa eine Woche. Dann wurde die Lösung im Vakuum vollkommen eingedunstet und das Produkt zur Analyse im Vakuum zur Konstanz getrocknet.

Methoxylbestimmung nach Zeisel.

Substanz mg	AgI mg	OCH ₃ Proz.
5,270	8,655	21,70
4,690	7,780	21,92

Berechnet $\frac{2}{3}$ Mol Natriumglykolat und $1\frac{1}{3}$ Mol Methyl auf einen Glucosest 21,66 Proz. OCH₃.

Die Carboxylgruppe wurde durch den Natriumgehalt bestimmt.

Substanz g	Na ₂ SO ₄ g	Na Proz.
0,2731	0,0554	6,57
0,2401	0,0490	6,68

Berechnet $\frac{2}{3}$ Mol Natriumglykolat und $1\frac{1}{3}$ Mol Methyl auf einen Glucosest 6,42 Proz. Na.

Das Natriumsalz ist ein schwach bräunlich gefärbtes Pulver, das sich in Wasser leicht löst, in organischen Lösungsmitteln aber unlöslich ist. Wie bei der entsprechenden Celluloseverbindung konnten keine unlöslichen Metallsalze erhalten werden.

IV. Inulinäther.

1920 erhielten *Irvine* und *Steel*¹⁾ Dimethylinulin durch Methylierung mit Natronlauge und Dimethylsulfat; 1921 stellte *Karrer*²⁾ auf die gleiche Weise ein Produkt mit etwa $2\frac{1}{2}$ Methoxylgruppen dar. Nur durch wochenlanges Erhitzen mit CH₃I und Ag₂O konnten drei Methylgruppen in das Inulin eingeführt werden. *Irvines* Dimethylinulin zeigte eine optische Drehung von $[\alpha]_D = -42^\circ$, das Trimethylinulin + 55,6°, während das von *Karrer* erhaltene Produkt mit $2\frac{1}{2}$ Methoxyl $-41,2^\circ$ und mit 3 Methoxyl -43° zeigte.

A. Inulinglykolsaures Natrium.

Ebenso wie die Glykolsäureverbindungen der Cellulose und der Stärke ließen sich auch Derivate des Inulins erhalten. Durch zweimalige Behandlung des Inulins mit Natronlauge und Chloressigsäure bildete sich ein Produkt mit etwas mehr als $2\frac{1}{2}$ Glykolsäuregruppen auf C₆. Im Gegensatz zu der entsprechenden Methylverbindung war das Produkt jedoch inaktiv.

¹⁾ Journ. Chem. Soc. London 118, 1474, 1920.

²⁾ Helvetica Chim. acta 4, 249, 1921.

Darstellung: 5 g käufliches Inulin (*Kahlbaum*) wurden in einem 500-ccm-Rundkolben mit 50 ccm Wasser übergossen und dann 40 ccm 50proz. Natronlauge unter fortwährendem Schütteln langsam hinzugefügt. Sobald sich eine homogene Masse gebildet hatte, blieb das Gemisch unter öfterem Umschütteln stehen, bis das gesamte Inulin gelöst war. Dann wurden unter kräftigem Umschütteln 30 g feste Chloressigsäure langsam hinzugefügt. Die Temperatur darf dabei nicht über 45 bis 50° steigen, da sonst Braunfärbung eintritt. Nach vollkommener Lösung der Chloressigsäure wurde eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, und dann blieb das Gemisch bei Zimmertemperatur 48 Stunden stehen. Etwas gebildetes Kochsalz setzte sich zu Boden und wurde vor weiterer Behandlung abfiltriert.

Zur zweiten Behandlung wurden wieder 40 ccm 30proz. Natronlauge und nach einstündigem Stehen 30 g Chloressigsäure in der schon beschriebenen Weise hinzugefügt, auf dem Wasserbade erwärmt und 40 Stunden stehen gelassen.

Diese Behandlung mit Chloressigsäure wurde in gleicher Weise ein drittes Mal wiederholt, das Gemisch zum Schluß aber nur 24 Stunden stehen gelassen. Da das Gemisch vollkommen erstarrt war, wurde es erwärmt und heiß vom Kochsalz getrennt. Beim Stehen über Nacht schied sich nun die Inulinverbindung als weiße amorphe Masse ab, die abgesaugt werden konnte. Beim Stehen wurde aus dem Filtrat eine weitere Menge an Reaktionsprodukt erhalten. Die feste Substanz war aber noch durch Natriumchlorid verunreinigt, sie wurde deshalb in Wasser gelöst, erst in fließendem Wasser, dann in destilliertem bis zur Chlorfreiheit dialysiert.

Wie vorher, wurde nach jeder Behandlung eine Probe entnommen, neutralisiert, mit Kupfersulfat gefällt und das Kupfer zur Bestimmung des Carboxylgehaltes analysiert.

Tabelle IX.

	Substanz g	Cu O g	Cu Proz.
1. Behandlung . .	0,6453	0,1532	18,75
2. " . .	0,3764	0,0982	20,88
3. " . .	0,2137	0,0555	20,75
3. " . .	0,3011	0,0785	20,83

Berechnet 2 Mol Glykolsäure auf C₆ . . . 18,73 Proz. Cu

„ 3 „ „ „ C₆ . . . 22,27 „ Cu

Die durch Dialyse gereinigte Lösung des Natriumsalzes ist eine klare, nicht viskose Lösung, sie zeigt keine optische Drehung.

Von den Erdalkalisalzen ist das Bariumsalz im Wasser unlöslich, während die Ca- und Sr-Salze löslich sind. Fe-, Al-, Pb-, Ag- und Cu-Salze sind ebenfalls unlöslich, während die Zn- und Mn-Salze im Gegensatz zu den entsprechenden Cellulose- und Stärkeverbindungen löslich sind.

Zusammenfassung.

1. Polysaccharide bilden mit Chloressigsäure bei Gegenwart eines Überschusses von konzentrierter Natronlauge bei gewöhnlicher Tempe-

ratur wasserlösliche Äther der Glykolsäure. Die Reaktion dauert 12 Stunden. Das günstigste Mengenverhältnis ist: 1 Mol Polysaccharid : 12 Mol Natronlauge : 9 Mol Chloressigsäure. Konzentrierte wässrige Natronlauge liefert bessere Ausbeute als verdünnte.

2. Der Celluloseglykolsäureäther mit dem niedrigsten Säuregehalt, der so dargestellt werden konnte, enthält eine Säuregruppe auf drei Glucosereste.

3. Die maximale Säuremenge, die in Polysaccharide nach dieser Methode eingeführt werden konnte, ist bei der Cellulose 3 Mol, bei der Stärke 2 Mol und bei dem Inulin $2\frac{1}{2}$ Mol Säure auf einen Glucoserest.

4. Die Äther mit verschiedenem Säuregehalt können durch ihre Erdalkalisalze getrennt werden. Die Verbindungen mit höherem Säuregehalt bilden unlösliche, die mit niederem Säuregehalt lösliche Erdalkalisalze.

5. Die Äthersäure der Cellulose mit dem niedrigen Säuregehalt liegt in Form eines Lactons vor und die der Stärke bildet wahrscheinlich ein Gemisch von freier Säure und Lacton. Die Äthersäuren der untersuchten Polysaccharide sind unlöslich in Wasser und organischen Lösungsmitteln.

6. Durch Methylierung mit Dimethylsulfat und Natronlauge konnte ein gemischter Methyl- und Glykolsäureäther der Cellulose erhalten werden, in dem die Säuregruppe zum Teil auch methyliert ist. Diese Verbindung ist löslich in kaltem und unlöslich in heißem Wasser. In dem entsprechenden gemischten Methyl-Glykolsäureäther der Stärke ist die Carboxylgruppe nicht methyliert und der Äther sowohl in kaltem als auch heißem Wasser löslich.

7. Durch Einwirkung von Chlorpropionsäure auf Natroncellulose in ähnlicher Weise konnte ein Cellulosemilchsäureäther dargestellt werden. Die Ausbeute war aber gering.

8. Der Celluloseglykolsäureäther wurde durch Jodphosphor und Wasser zu Cellulose und Glykolsäure gespalten.

Die vorliegende Untersuchung ist im Kaiser Wilhelm-Institut für Faserstoffchemie, Berlin-Dahlem, auf Anregung des Herrn Professor *R. O. Herzog* ausgeführt worden.

Untersuchungen über den Einfluß der Salzfreiheit und der Lipoidfreiheit der Nahrung auf den Gaswechsel von Ratten.

Von

Kimio Nakayama.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 27. März 1924.)

Die Berücksichtigung der Bedeutung der organischen akzessorischen Nährstoffe, der Lipoide und der sogenannten Vitamine, haben der Ernährungslehre ganz neue Bahnen eröffnet und Tatsachen von der größten praktischen Bedeutung an das Tageslicht gebracht. Vielleicht ist unter dem Eindruck der Erfolge, namentlich des Studiums der Vitamine, eine andere, nach wie vor praktisch wichtige Frage in den Hintergrund getreten, nämlich die Frage nach der Bedeutung des Mineralstoffwechsels für die feinere Regulierung des Gesamtstoffwechsels. Was die großen Körperfunktionen anbelangt, so steht die Sache etwas anders, als mehr und mehr die Erkenntnis durchgebrochen ist, ein wie erheblicher Anteil in der Gestaltung der Funktionen auf Rechnung der anorganischen Bestandteile, insbesondere in ihrem ionisierten Zustande zu setzen ist.

Schon rein methodologisch muß bei der Untersuchung des Einflusses organischer akzessorischer Nährstoffe den Mineralbestandteilen der Nahrung Rechnung getragen werden. Denn die Herstellung einer den Versuchszwecken richtig angepaßten Kost ist durchaus nicht leicht und bei den Manipulationen, um die gewünschte Zusammensetzung der Kost zu erhalten, wird ja auch der Mineralbestand der Nahrungsmittel tiefgehend verändert. Man trägt natürlich diesem Umstande Rechnung und namentlich die um die Ernährungslehre so verdienten amerikanischen Autoren haben detaillierte Mineralrezepte ausgearbeitet, um dem Organismus bei Ernährung mit vitaminfreier Nahrung die nötigen Salze zuzuführen. Inwieweit diese Art der Salzzuführung den physiologischen Verhältnissen entspricht, hängt von der Zuverlässigkeit unserer Kenntnisse über die qualitative und quantitative Mineralzusammensetzung der Nahrung ab. Das letzte Wort in dieser Frage ist jedenfalls noch nicht gesprochen worden.

Erwägungen dieser Art sind es gewesen, welche Veranlassung dazu gaben, daß *Pedotti*¹⁾ im Berner physiologischen Institut eine Untersuchung darüber anstellte, wie sich der respiratorische Umsatz von Ratten verhielt, wenn in einer Nahrung, welche so zusammengesetzt war, daß sie die erforderlichen organischen Nährstoffe und Vitamine enthielt, gewisse Mineralien fehlten. Ich habe auf Anregung von Prof. *Asher* ein anderes hierher gehörendes Problem in Bearbeitung gezogen. Ich habe untersucht, welchen Einfluß einmal das vollständige Fehlen von Salzen und Lipoiden auf den respiratorischen Umsatz von Ratten hätte, sodann im einzelnen die Weglassung entweder nur der Salze oder nur der Lipide. Ich bemerke, daß meine Untersuchungen nicht die Wachstumsfrage betreffen, denn ich habe an ausgewachsenen Tieren gearbeitet. Ferner habe ich aus methodologischen Gründen nicht das eigentliche Problem der Vitamine mit hineingezogen, sondern das ursprüngliche, von *Stepp* begründete Gebiet des Lipoidinflusses.

Meine Untersuchungen wurden an ausgewachsenen Ratten angestellt. Über die Zusammensetzung der Nahrung, welche in den verschiedenen Serien gereicht wurde, soweit sie die Nahrung ohne Salze und ohne Lipide betrifft, gibt meine Tabelle I Auskunft. In denjenigen meiner Versuche, wo ich der lipoidfreien Nahrung Salze zusetzte, habe ich die neueste Salzmischung nach den Vorschriften von *Lafayette B. Mendel* und *Osborne*, die sich in den Händen dieser Forscher sehr bewährt hat, der Nahrung zugesetzt. In meinen Tabellen über sämtliche von mir angestellten Versuche unterscheide ich zwischen einer nicht strengen Kost und einer strengen Kost. Unter nicht strenger Kost verstehe ich eine solche, die zusammengesetzt ist aus einfach getrocknetem Brote mit alkoholextrahiertem Fleische und Margarine; unter strenger Kost verstehe ich eine solche, welche besteht aus Brot, welches mit Alkohol und Äther extrahiert worden ist, aus ebenso mit Alkohol und Äther extrahiertem Fleische und aus Margarine. Ich habe den Lipoidgehalt des rohen Fleisches bestimmt und in denjenigen meiner Versuche, wo ich Lipide der salzfreien Nahrung zugesetzt habe, habe ich die Lipide, die ich aus Fleisch gewonnen hatte, in dem Verhältnis, wie sie im Fleische enthalten waren, zugesetzt.

Den respiratorischen Umsatz habe ich in dem von *Asher* modifizierten *Haldaneschen* Apparat in der vielfach beschriebenen Weise, wie sie im Berner physiologischen Institut üblich ist, bestimmt. Meine Versuche erstrecken sich über eine für Ratten als lang zu bezeichnende Periode, denn die von mir angestellten Versuche erstrecken sich auf eine Dauer von etwa 6 Monaten. Meine Tabellen (Tabellen II bis VIII) enthalten ausführlich die von mir ermittelten Daten, nämlich das

¹⁾ Diese Zeitschrift 123. H. 5/6, S. 272. 1921.

Körpergewicht, die äußeren Versuchsbedingungen, die Größe der Bildung von Wasser und Kohlensäure, den Sauerstoffverbrauch, den respiratorischen Quotienten, die Kohlensäurebildung und den Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde in Grammen, die aus einer längeren Versuchsperiode gewonnenen Durchschnittswerte und die Art der Fütterung.

Ich beginne mit einer Bemerkung über das Verhalten des respiratorischen Quotienten. Sieht man meine zahlreichen Protokolle durch, so erkennt man in allen Versuchsreihen eine merkliche Konstanz des

Tabelle I.

Das Futter war:

Für I. Gruppe (ohne Salze, ohne Lipoid)

	Pro Tag. pro Tier	g
21. III. bis 12. IV. {	Getrocknetes Wasserweißbrot .	5,0
	Getrocknetes Rindfleisch . . .	0,75
	Margarine	0,5
Bei dieser Kost hat das Körpergewicht 30 bis 50 g abgenommen.		
13. IV. bis 22. IV. {	Getrocknetes Wasserweißbrot .	6,0
	Getrocknetes Rindfleisch . . .	0,9
	Margarine	0,6
Das Körpergewicht hat etwas zugenommen, aber nicht deutlich.		
23. IV. {	Getrocknetes Wasserweißbrot .	7,5
	Getrocknetes Rindfleisch . . .	0,9
	Margarine	0,75

Für II. Gruppe (ohne Salze, mit Lipoid)

	Pro Tag. pro Tier	g
21. III. bis 12. IV. {	Getrocknetes Wasserweißbrot .	5,0
	Getrocknetes Rindfleisch . . .	0,75
	Margarine	0,5
	Lipoid	0,12
Das Körpergewicht hat nur etwa 10 g abgenommen.		
13. IV. bis 22. IV. {	Getrocknetes Wasserweißbrot .	6,0
	Getrocknetes Rindfleisch . . .	0,9
	Margarine	0,6
	Lipoid	—
Das Körpergewicht ist fast wie früher geworden.		
23. IV. {	Getrocknetes Wasserweißbrot .	7,5
	Getrocknetes Rindfleisch . . .	0,9
	Margarine	0,75
	Lipoid	0,15

Getrocknetes Rindfleisch, 2 Tage lang mit Alkohol auf dem Wasserbade extrahiert, nachdem 2 bis 3 Tage lang mit Wasser gespült und getrocknet, pulverisiert.

Lipoid, aus dem Fleisch mit Alkohol extrahiert, verdampft, dann zwei- bis dreimal mit Wasser gekocht, verdampft.

Ich konnte aus 1580 g rohem Rindfleisch 368,80 g getrocknetes Fleisch und 62,50 g Lipoid bekommen, deshalb habe ich gebraucht: 0,1 g Lipoid auf 0,6 g getrockneten Fleisches.

Wertes des respiratorischen Quotienten. Gleichgültig, ob die Tiere die gewöhnliche Kost erhielten oder eine lipid- und salzfreie Kost, oder eine Kost, wo nur einer der genannten Stoffe fehlte, der respiratorische Quotient blieb sich annähernd gleich. Hieraus darf der Schluß gezogen werden, daß eine tiefgreifende Veränderung in der Zusammensetzung der Kost, wie sie in meinen Versuchen stattgefunden hat, qualitativ den Ablauf des Grundumsatzes nicht ändert, sondern, wenn überhaupt, quantitativ.

Was nun die Ergebnisse in bezug auf das quantitative Verhalten des Grundumsatzes betrifft, so geht aus allen meinen Versuchen übereinstimmend hervor, daß eine Ernährung mit energetisch genügendem salz- und lipidfreien Futter, welches aber noch Vitamine enthält, und zwar absichtlich, eine merkliche Herabsetzung des Grundumsatzes zur Folge hat. Ich gebe hiervon einige Belege. Beispielsweise vermindert sich in der Versuchsreihe der Tabelle II der Grundumsatz von dem Mittelwert 2,59 ccm Kohlensäurebildung und 2,59 ccm Sauerstoffverbrauch auf 2,22 ccm Kohlensäurebildung und 2,16 ccm Sauerstoffverbrauch, oder in Versuchsreihe Tabelle IV von 3,02 ccm Kohlensäurebildung und 2,98 ccm Sauerstoffverbrauch auf 2,68 ccm Kohlensäurebildung und 2,52 ccm Sauerstoffverbrauch; oder in Tabelle V von einer Kohlensäurebildung 2,59 ccm und einem Sauerstoffverbrauch 2,69 ccm auf eine Kohlensäurebildung 2,18 ccm und einen Sauerstoffverbrauch von 2,12 ccm.

Nach dieser Feststellung handelt es sich darum, zu ermitteln, welchem von den beiden Faktoren, dem Fehlen der Salze oder dem Fehlen der Lipide die größere Rolle für die Verminderung des Grundumsatzes zukommt. Auf diese Frage geben die von mir erhaltenen Versuche die Antwort, daß das Fehlen der Salze wohl die größte Rolle spielt. Als Beispiel will ich das Resultat aus der Versuchsreihe in Tabelle IV geben. Bei einem lipidfreien Futter, welches Salze enthielt, war der Mittelwert der Kohlensäurebildung 2,73 ccm und derjenige des Sauerstoffverbrauchs 2,64 ccm. Als ich daran eine Periode der Ernährung mit einer salzfreien Kost unter Zusatz von Lipoiden schloß, verminderte sich der Durchschnittswert der Kohlensäurebildung auf 2,36 ccm, derjenige des Sauerstoffverbrauchs auf 2,29 ccm. Ähnlich ist das Resultat in Tabelle V. Während der Periode der Ernährung mit lipidfreiem Futter unter Zusatz von Salzen betrug der durchschnittliche Wert der Kohlensäurebildung 2,54 ccm, derjenige des Sauerstoffverbrauchs 2,46 ccm. Als dann eine Periode der salz- und lipidfreien Kost sich anschloß, sank die Kohlensäurebildung auf 2,19 ccm, der Sauerstoffverbrauch auf 2,13 ccm. Schließlich als letztes Beispiel seien Versuche von Tabelle VII herangezogen. In der Periode, wo salzfreies Futter mit Lipoiden gegeben wurde, und zwar bei der

Tabelle II.

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O- Bildung g	CO ₂ - Bildung g	O ₂ - Verbrauch g
1	1. III.	2,5	21	18	191,44	0,17	1,20	1,15
2	2. III.	3,0	22	18,5	196,72	0,27	1,57	1,47
3	7. III.	3,0	20	17,3	204,63	0,35	1,16	1,53
4	12. III.	2,5	20	17	197,16	0,38	1,32	1,27
5	14. III.	2,5	21	16,5	196,04	0,20	1,30	1,21
6	15. III.	3,0	21	16,5	192,64	0,31	1,87	1,83
7	16. III.	2,5	19	16,5	191,61	0,21	1,36	1,26
8	17. III.	3,0	19	17	187,95	0,39	1,63	1,56
9	4. V.	3,5	23	20	181,43	0,45	1,42	1,37
10	14. V.	4,0	22	15	203,74	0,49	2,05	1,90
11	15. V.	4,0	22	15	205,14	0,16	1,34	1,23
12	18. V.	4,0	23	15	214,34	0,27	2,03	1,80
13	21. V.	3,0	23	15	209,90	0,30	1,27	1,22
14	22. V.	3,0	23	15	213,89	0,30	1,46	1,28
15	25. V.	3,0	23	16,5	214,08	0,64	1,44	1,32
16	28. V.	3,0	23	15	215,21	0,25	1,43	1,31
17	30. V.	3,0	23	15	212,37	0,19	1,36	1,25
18	1. VI.	3,5	23	15,5	211,73	0,34	1,64	1,48
19	20. VI.	5,0	23	15	202,09	0,35	2,12	2,09
20	22. VI.	3,5	23	15	204,72	0,23	1,40	1,37
21	25. VI.	4,0	23	17	204,27	0,36	1,56	1,54
22	27. VI.	3,0	23	17	199,43	0,18	1,04	1,05
23	4. VII.	4,0	22	19	193,87	0,35	1,87	1,86
24	9. VII.	3,0	25	22	181,08	0,57	1,43	1,42
25	11. VII.	3,0	26	23,5	181,13	0,33	1,52	1,52
26	13. VII.	3,0	27	26	182,49	0,87	1,22	1,18
27	18. VII.	3,0	22	20	178,42	0,70	1,43	1,44
28	23. VII.	3,0	24	21,5	182,14	0,69	1,18	1,11
29	24. VII.	3,0	24	21	182,65	0,65	1,05	0,95
30	25. VII.	3,5	24	21,5	175,24	0,48	1,43	1,38
31	26. VII.	3,0	24	22	176,04	0,40	1,08	1,01
32	27. VII.	3,0	23,5	21	174,40	0,36	1,20	1,13
33	14. VIII.	3,0	25	23	212,86	0,34	1,60	1,51
34	16. VIII.	3,0	23	21	205,21	0,42	1,45	1,35
35	20. VIII.	3,0	20	18	201,34	0,29	1,41	1,30
36	21. VIII.	3,0	23	20	199,13	0,55	1,47	1,41
37	23. VIII.	3,0	22	18	202,15	0,30	1,41	1,36
38	23. VIII.	3,0	22	19	201,76	0,51	1,57	1,50
39	25. VIII.	3,0	23	17	207,02	0,26	1,38	1,25
40	25. VIII.	3,0	22	17	206,63	0,33	1,55	1,48
41	27. VIII.	3,0	23	18	205,04	0,39	1,52	1,46
42	28. VIII.	3,0	23	17	194,30	0,66	1,51	1,40

1. Kopf ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7239	2,5073	2,4028	0,7257	2,5962	2,5990	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7759	2,6603	2,4908					
0,7317	2,3059	2,2892					
0,7550	2,6780	2,5766					
0,7805	2,6525	2,4689					
0,7423	3,2358	3,1665					
0,7841	2,8391	2,6304					
0,7570	2,8908	2,7667	0,7870	2,2194	2,0485	Salz- und lipoidfreies Futter seit 21. III. (nicht streng)	
0,7529	2,2362	2,1575					
0,7838	2,5155	2,2997					
0,7914	2,1774	1,9986					
0,8193	2,3677	2,0995					
0,7562	2,0168	1,9374					
0,8286	2,2753	1,9948					
0,7925	2,2422	2,0553					
0,7930	2,2149	1,9828					
0,7904	2,1346	1,9620					
0,8050	2,2131	1,9972	0,7462	2,2233	2,1645	(Streng) salz- und lipoid- freies Futter, seit 16. VI.	Nüchtern
0,7369	2,0981	2,0684					
0,7423	1,9539	1,9120					
0,7359	1,9092	1,8848					
0,7195	1,7383	1,7550					
0,7303	2,4114	2,3985					
0,7316	2,5724	2,5544					
0,7264	2,7973	2,7973					
0,7510	2,2284	2,1554					
0,7213	2,6716	2,6903					
0,7722	2,1595	2,0315					
0,8029	1,9162	1,7337					
0,7528	2,3315	2,2500					
0,7768	2,0450	1,9124					
0,7714	2,2936	2,1598	0,7705	2,4359	2,2966	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 27. III. streng	Nüchtern
0,7697	2,5056	2,3646					
0,7802	2,3553	2,1929					
0,7879	2,3344	2,1522					
0,7573	2,4607	2,3603					
0,7531	2,3250	2,2426					
0,7603	2,5938	2,4782					
0,8020	2,2220	2,0127					
0,7608	2,5005	2,3875					
0,7563	2,4711	2,3735					
0,7835	2,5905	2,4018					

Tabelle III.

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O- Bildung g	CO ₂ - Bildung g	O ₂ - Verbrauch g
1	26. III.	3,0	20	18	183,70	0,27	1,42	1,32
2	6. III.	3,5	19	18	202,72	0,54	1,86	1,87
3	8. III.	3,0	19	16	198,24	0,34	1,50	1,50
4	9. III.	3,0	19	16—17	188,40	0,29	1,52	1,53
5	13. III.	3,0	21	17	184,80	0,26	1,45	1,44
6	14. III.	2,5	20	16—17	188,62	0,44	1,48	1,39
7	15. III.	3,0	20	16,5	186,84	0,23	1,41	1,36
8	16. III.	2,5	21	16	183,03	0,32	1,23	1,22
9	1. V.	3,0	23	17,6	155,81	0,51	1,03	1,01
10	4. V.	3,5	22	17,7	163,21	0,76	1,36	1,53
11	9. V.	4,0	21	18	170,18	0,47	1,72	1,51
12	24. V.	3,0	23	17	167,31	0,46	1,32	1,19
13	25. V.	3,0	23	16,5	161,91	0,25	1,14	1,06
14	29. V.	3,0	23	16	164,04	0,23	1,23	1,15
15	30. V.	3,5	23	15	161,44	0,24	1,30	1,21
16	1. VI.	3,5	23	15,5	163,12	0,22	1,41	1,26
17	4. VI.	3,0	23	16	164,67	0,25	1,09	1,03
18	5. VI.	3,0	23	15	168,87	0,22	1,17	1,09
19	19. VI.	4,0	22	15	145,31	0,59	1,55	1,49
20	21. VI.	4,0	23	15	147,65	0,45	1,50	1,42
21	23. VI.	3,0	23	16	145,31	0,22	1,10	1,06
22	26. VI.	4,0	23	17	142,80	0,51	1,50	1,44
23	3. VII.	4,0	23	19	140,72	0,89	1,37	1,34
24	5. VII.	3,0	22	20	145,30	0,77	1,16	1,11
25	20. VII.	3,0	23	22	146,56	0,88	1,43	1,43
26	23. VII.	3,0	23	22	148,15	0,32	1,41	1,36
27	24. VII.	3,0	24	22	149,36	0,73	1,12	1,10
28	25. VII.	3,0	23	22	154,93	0,40	1,21	1,20
29	26. VII.	3,0	23	22	148,96	0,54	1,39	1,36
30	27. VII.	3,0	22	22	141,95	0,44	1,32	1,30
31	14. VIII.	3,0	26	24	154,59	0,40	1,19	1,13
32	16. VIII.	3,0	23	21	153,61	0,33	1,19	1,17
33	16. VIII.	3,0	24	22	153,19	0,65	1,29	1,29
34	18. VIII.	3,5	23	21	147,34	0,43	1,39	1,37
35	20. VIII.	3,0	22	18	145,30	0,49	1,34	1,35
36	20. VIII.	3,5	23	20	144,71	0,63	1,41	1,40
37	22. VIII.	3,0	21	19	137,41	0,74	1,31	1,26
38	22. VIII.	3,0	22	19	136,57	0,54	1,31	1,27

von mir als nicht streng bezeichneten Kost, betrug die Kohlensäurebildung 2,55 ccm, der Sauerstoffverbrauch 2,41 ccm. In der nachfolgenden Periode wurde eine streng salz- und lipoidfreie Kost gereicht, der Grundumsatz minderte sich noch weiter auf 2,26 ccm Kohlensäurebildung und 2,23 ccm Sauerstoffverbrauch. Hieran schloß sich eine Periode, in welcher eine streng lipoid-

1. Schwanz ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ - Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ - Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7815	2,5767	2,3952	0,7428	2,6709	2,6122	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7225	2,6215	2,6356					
0,7264	2,5222	2,5222					
0,7217	2,6893	2,7070					
0,7315	2,6154	2,5974					
0,7734	3,1386	2,9477					
0,7531	2,5155	2,4263					
0,7324	2,6881	2,6662					
0,7408	2,2035	2,1607	0,7697	2,3876	2,2533	Salz- und lipoidfreies Futter seit 21. III. (nicht streng)	Nüchtern
0,8129	2,3808	2,6784					
0,8275	2,5267	2,2182					
0,8058	2,6299	2,3708					
0,7813	2,3470	2,1828					
0,7768	2,4994	2,3368					
0,7805	2,3007	2,1414					
0,8129	2,4697	2,2070					
0,7688	2,2084	2,0850	0,7466	2,7658	2,6911	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 9. VI. (streng)	Nüchtern
0,7798	2,3095	2,1516					
0,7557	2,6667	2,5635					
0,7674	2,5398	2,4043					
0,7538	2,5233	2,4316					
0,7567	2,6261	2,5210					
0,7427	2,4339	2,3806					
0,7592	2,6612	2,5465	0,7403	2,8605	2,8071	Lipoidfreies Futter (mit Salz) seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7264	3,2524	3,2524					
0,7531	3,1725	3,0600					
0,7396	2,4996	2,4549					
0,7325	2,6033	2,5818					
0,7425	3,1105	3,0433					
0,7367	3,0997	3,0527					
0,7650	2,5659	2,4366	0,7403	2,8605	2,8071	Lipoidfreies Futter (mit Salz) seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7387	2,5823	2,5389					
0,7264	2,8070	2,8070					
0,7370	2,6954	2,6566					
0,7211	3,0741	3,0970					
0,7316	2,7839	2,7641					
0,7553	3,1778	3,0566					
0,7493	3,1974	3,0998					

freie Kost gereicht wurde unter Zusatz der Salzmischung. Es hob sich die Kohlensäurebildung auf 2,53 ccm, der Sauerstoffverbrauch auf 2,51 ccm.

In jeder Versuchsperiode ließ sich durch Wiederdarreichung von gewöhnlichem Futter der Stoffwechsel wieder heben. Ich gebe als Beispiel das Resultat der Tabelle VI. Es war durch Darreichung einer

Tabelle IV

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O- Bildung g	CO ₂ - Bildung g	O ₂ - Verbrauch g
1	26. II.	3,0	21	18	128,93	0,21	1,16	1,09
2	2. III.	3,0	23	18	129,17	0,26	1,08	1,09
3	5. III.	3,0	20	16,5	140,64	0,39	1,34	1,40
4	7. III.	3,0	21	16,5	137,22	0,26	1,22	1,23
5	12. III.	2,5	22	17	135,49	0,22	0,95	0,93
6	13. III.	3,0	21	16	129,50	0,34	1,27	1,25
7	16. III.	2,5	21,5	16,5	132,54	0,35	1,06	1,02
8	17. III.	3,0	21	17	132,63	0,20	1,19	1,13
9	1. V.	3,0	23	18	114,75	0,48	0,97	0,94
10	5. V.	3,0	23	18,5	123,38	0,48	1,16	1,03
11	8. V.	3,0	22	21	117,29	0,72	0,83	0,83
12	18. V.	4,0	23	15	119,25	0,20	1,24	1,15
13	23. V.	3,0	23	15	121,17	0,17	0,94	0,87
14	24. V.	3,0	23	17	118,33	0,23	0,92	0,88
15	26. V.	3,0	23	15,5	117,09	0,17	0,88	0,80
16	31. V.	3,5	23	16	113,90	0,18	1,09	1,02
17	4. VI.	3,0	23	16	116,49	0,22	0,98	0,92
18	5. VI.	3,0	22	15	116,44	0,16	0,92	0,91
19	18. VII.	3,0	22	21	123,90	0,51	0,93	0,93
20	19. VII.	3,0	23	20,5	121,70	0,29	1,13	1,13
21	21. VII.	3,0	22	21	120,86	0,43	0,97	0,95
22	24. VII.	3,0	23	21	121,32	0,46	0,84	0,82
23	25. VII.	3,0	23	21,5	122,70	0,68	0,98	0,91
24	26. VII.	2,5	23	22	122,57	0,53	0,83	0,77
25	27. VII.	3,0	22	21	117,20	0,24	1,10	1,06
26	15. VIII.	3,0	26	23	145,43	0,27	1,08	0,99
27	15. VIII.	3,0	26	24	145,07	0,42	0,98	0,92
28	16. VIII.	3,0	23	21	142,99	0,30	0,99	0,97
29	17. VIII.	3,0	23	21	141,42	0,45	1,11	1,05
30	17. VIII.	3,0	23	21	140,76	0,34	0,96	0,95
31	20. VIII.	2,5	22	18	141,43	0,19	0,74	0,70
32	21. VIII.	3,0	23	20	139,98	0,42	0,99	0,96
33	23. VIII.	3,0	22	18	144,82	0,59	1,08	1,05
34	23. VIII.	3,0	22	18	144,17	0,56	1,07	1,07
35	25. VIII.	3,0	23	17	148,94	0,47	1,10	1,03
36	25. VIII.	3,0	22	17	148,40	0,31	1,08	1,04

salzfreien Kost der Grundumsatz gesunken auf eine Kohlensäurebildung von 2,41 ccm und einen Sauerstoffverbrauch von 2,33 ccm. Hieran schloß ich eine mehrwöchige Periode bei gewöhnlichem Futter. Es hob sich der Grundumsatz auf 2,81 ccm Kohlensäurebildung und 2,74 ccm Sauerstoffverbrauch, was, wie die erste Reihe von Tabelle VI zeigt, dem normalen Anfangswerte entspricht.

1. Rücken ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ - Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ - Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7911	2,9990	2,8181	0,7354	3,0236	2,9867	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7198	2,7870	2,8128					
0,6953	3,1760	3,3182					
0,7205	2,9636	2,9879					
0,7421	2,8046	2,7456					
0,7381	3,2690	3,2924					
0,7549	3,1990	3,0783					
0,7650	2,9908	2,8400	0,7706	2,6765	2,5230	Salz- und lipoidfreies Futter seit 21. III. (nicht streng)	Nüchtern
0,7496	2,8177	2,7312					
0,8181	3,1340	2,7827					
0,7264	2,3588	2,3588					
0,7833	2,5996	2,4109					
0,7849	2,5859	2,3928					
0,7595	2,5916	2,4789					
0,7991	2,5052	2,2779	0,7509	2,7257	2,6386	Lipoidfreies Futter (mit Salz) seit 18. VI. (streng)	Nüchtern
0,7763	2,7342	2,5586					
0,7738	2,8042	2,6326					
0,7344	2,6337	2,6051					
0,7264	2,5020	2,5020					
0,7264	3,0950	3,0950					
0,7417	2,6753	2,0201					
0,7442	2,3079	2,2530	0,7483	2,3565	2,2879	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7823	2,6623	2,4722					
0,7830	2,7087	2,5129					
0,7538	3,1286	3,0148					
0,7925	2,4754	2,2691					
0,7738	2,2518	2,1139					
0,7414	2,3079	2,2612					
0,7679	2,6163	2,4749	0,7483	2,3565	2,2879	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7341	2,2734	2,2497					
0,7679	2,0929	1,9798					
0,7491	2,3575	2,2860					
0,7472	2,4858	2,4168					
0,7264	2,4739	2,4739					
0,7758	2,4618	2,3052					
0,7544	2,4248	2,3360					

Im großen ganzen führen meine Versuche zu dem Schluß, daß dem Salz-mangel die größere Bedeutung zukommt, d. h. bei Mangel an Salzen in der Kost ist der Grundumsatz sehr viel mehr vermindert als bei bloßem Mangel von Lipoiden, und man darf wohl, wenn man an die Herstellung der von mir gereichten Nahrung denkt, einen gewissen Mangel an Vitaminen, keinen vollständigen, mit einbeziehen. Aber auch den Lipoiden kommt ein Einfluß zu, denn in den einzelnen,

Tabelle V.

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O- Bildung g	CO ₂ - Bildung g	O ₂ - Verbrauch g
1	27. II.	3,5	20	17	185,22	0,24	1,57	1,45
2	5. III.	3,5	20	17,5	205,07	0,46	1,84	1,70
3	6. III.	3,0	20	17	199,56	0,45	1,54	1,47
4	7. III.	3,0	19	16,5	198,90	0,43	1,55	1,44
5	10. III.	3,0	20	16,5	199,49	0,39	1,38	1,37
6	12. III.	3,0	20	17	185,13	0,35	1,61	1,62
7	14. III.	3,5	19	16	185,09	0,30	1,55	1,56
8	16. III.	2,5	19	16	182,87	0,31	1,23	1,23
9	2. V.	3,0	22	18	154,65	0,22	1,13	1,00
10	4. V.	3,5	22	20	152,69	0,56	1,29	1,17
11	8. V.	3,0	24	22	159,72	0,60	1,08	1,04
12	11. V.	3,5	22	18	164,14	0,63	1,11	1,05
13	15. V.	3,5	22	16	171,37	0,33	1,32	1,27
14	18. V.	3,0	23	15	172,72	0,17	1,08	1,05
15	23. V.	3,0	23	15	182,92	0,34	1,38	1,29
16	26. V.	3,0	23	15,5	179,44	0,37	1,22	1,10
17	31. V.	3,5	23	16	179,28	0,29	1,43	1,32
18	5. VI.	3,0	23	16	177,02	0,24	1,12	1,07
19	14. VII.	3,0	26	25	154,21	0,49	1,08	1,06
20	16. VII.	3,0	25	24	151,93	0,99	1,13	1,12
21	18. VII.	3,0	22	21,5	150,19	0,44	1,24	1,21
22	21. VII.	3,0	22,5	21	148,79	0,38	1,27	1,25
23	23. VII.	3,0	25	23	153,83	0,50	1,09	1,08
24	24. VII.	3,0	23	21	150,47	0,38	1,19	1,13
25	25. VII.	3,0	22,5	21,5	156,15	0,49	1,09	1,04
26	26. VII.	2,5	23	22	154,56	0,35	1,08	1,05
27	27. VII.	3,0	22	21	157,84	0,50	1,09	0,99
28	14. VIII.	3,0	26	24	148,06	0,37	0,97	0,91
29	14. VIII.	3,0	26	24	147,56	0,39	0,99	0,97
30	16. VIII.	3,0	23	21	145,93	0,16	0,83	0,84
31	16. VIII.	3,0	23	21	145,60	0,24	0,83	0,83
32	18. VIII.	3,5	23	21	142,91	0,28	0,99	0,97
33	20. VIII.	3,5	23	20	141,62	0,58	1,01	0,99
34	22. VIII.	2,5	21	19	140,56	0,25	0,78	0,78
35	22. VIII.	3,0	22	19	140,28	0,45	1,00	0,99
36	24. VIII.	3,0	22	18	139,00	0,72	0,99	0,96
37	24. VIII.	3,0	21	18	138,07	0,60	0,95	0,90
38	28. VIII.	3,0	23	17	140,15	0,36	1,06	0,99

allerdings nicht sehr ausgesprochenen Fällen, vermag der Zusatz von Lipoiden die Verhältnisse wieder etwas zu bessern. Als ein Beispiel gebe ich eine Versuchsreihe aus Tabelle III. In einer längeren Periode der Ernährung mit salz- und lipidfreiem Futter war der Grundumsatz gesunken auf eine Kohlensäurebildung von 2,39 ccm und einen Sauerstoffverbrauch von 2,25 ccm. In der nachfolgenden Periode hob sich

I. Braun ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ - Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ - Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7866	2,4218	2,2367	0,7537	2,5950	2,6904	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7644	2,6226	2,4623					
0,7863	2,5636	2,3685					
0,7610	2,5723	2,5126					
0,7819	2,5976	2,4133					
0,7219	2,8989	2,9169					
0,7217	2,3927	2,4081					
0,7264	2,6904	2,6904	0,7761	2,2488	2,1048	Salz- und lipoidfreies Futter seit 21. III. (nicht streng)	Nüchtern
0,8209	2,4356	2,1554					
0,8009	2,4139	2,1893					
0,7544	2,2540	2,2210					
0,7679	1,9322	1,8273					
0,7550	2,2008	2,1174					
0,7472	2,0843	2,0267					
0,7771	2,5148	2,3508					
0,7991	2,2663	2,0434					
0,7870	2,2790	2,1037	0,7503	2,5370	2,4562	Lipoidfreies Futter (mit Salz) seit 18. VI. (streng)	Nüchtern
0,7604	2,1066	2,0126					
0,7401	2,3345	2,2912					
0,7323	2,4792	2,4573					
0,7444	2,7521	2,6855					
0,7381	2,8452	2,8004					
0,7332	2,3619	2,3402					
0,7650	2,6362	2,5033					
0,7614	2,3268	2,2201	0,7454	2,1834	2,1279		
0,7472	2,7950	2,7174					
0,7998	2,3019	2,0907					
0,7743	2,1838	2,0487					
0,7414	2,2364	2,1912					
0,7178	1,8959	1,9187					
0,7264	1,9002	1,9002					
0,7414	1,9793	1,9393					
0,7411	2,0376	1,9973					
0,7264	2,2197	2,2197					
0,7338	2,3762	2,3524					
0,7491	2,3741	2,3022					
0,7668	2,2935	2,1728					
0,7778	2,5211	2,3546					

bei salzfreiem Futter mit Lipoiden der Umsatz auf 2,77 cem Kohlen-
säurebildung und 2,69 cem Sauerstoffverbrauch. Er stieg dann aller-
dings noch weiter, als in der nachfolgenden Periode lipoidfreies Futter
mit Salzen gegeben wurde. Auch in einigen anderen Versuchsreihen
findet sich ein kleiner Einfluß der Lipoiden.

Meine Untersuchungen haben ergeben, daß zu den Faktoren,

Tabelle VI

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O- Bildung g	CO ₂ - Bildung g	O ₂ - Verbrauch g
1	27. II.	3,5	21	17	164,58	0,21	1,49	1,46
2	3. III.	3,0	21,5	17	162,82	0,24	1,24	1,23
3	7. III.	3,0	22	17	168,84	0,41	1,45	1,39
4	8. III.	3,0	21	16	166,67	0,26	1,40	1,34
5	9. III.	3,5	21	17	165,67	0,36	1,48	1,46
6	10. III.	3,0	21	16,5	158,48	0,22	1,26	1,28
7	13. III.	3,0	20	16,2	149,83	0,46	1,45	1,40
8	15. III.	3,0	18	16	151,60	0,32	1,35	1,35
9	1. V.	3,5	22—23	18	158,71	0,54	1,43	1,34
10	14. V.	3,0	22	15	167,73	0,19	1,22	1,26
11	19. V.	3,0	23	15	173,77	0,29	1,35	1,28
12	21. V.	3,5	23	15	173,24	0,55	1,67	1,66
13	23. V.	3,5	23	17,5	171,77	0,42	1,45	1,40
14	28. V.	3,0	23	15	163,96	0,51	1,10	1,07
15	29. V.	3,5	23	16	163,33	0,42	1,30	1,27
16	30. V.	3,0	23	15	163,73	0,45	1,09	1,04
17	31. V.	3,0	23	16	162,73	0,16	1,16	1,12
18	1. VI.	3,0	22	17	160,80	0,24	1,09	1,01
19	5. VII.	3,0	23	20	148,45	0,39	1,20	1,19
20	10. VII.	3,0	25	23	151,10	0,49	1,14	1,41
21	12. VII.	3,0	27	24	150,28	0,42	1,43	1,44
22	17. VII.	3,0	26	23,5	151,09	0,99	1,40	1,40
23	19. VII.	3,0	23	20	145,51	0,26	1,22	1,23
24	21. VII.	3,0	24	21	152,09	0,67	1,18	1,14
25	24. VII.	3,0	24	22	151,22	0,46	1,34	1,25
26	25. VII.	3,0	23	21,5	152,07	0,52	1,16	1,08
27	26. VII.	2,5	24	22	153,55	0,48	1,05	0,96
28	27. VII.	3,0	24	21	151,71	0,34	1,10	1,09
29	15. VIII.	3,0	26	24	188,68	0,55	1,20	1,18
30	16. VIII.	3,0	23	21	186,36	0,36	1,43	1,39
31	17. VIII.	3,0	23	21	184,87	0,33	1,28	1,21
32	17. VIII.	4,0	23	21	184,09	0,43	1,69	1,66
33	20. VIII.	3,0	22	18	183,28	0,31	1,16	1,11
34	21. VIII.	3,0	23	20	180,20	0,43	1,31	1,28
35	23. VIII.	3,0	22	18	181,09	0,78	1,30	1,26
36	23. VIII.	3,0	22	18	180,22	0,66	1,35	1,36
37	25. VIII.	3,0	22	17	184,40	0,29	1,33	1,30
38	25. VIII.	3,0	22	17	184,08	0,63	1,53	1,42

welche auf die Höhe des Grundumsatzes einen Einfluß besitzen, die Mineralien in der Nahrung gehören. Diese Tatsache wird in mehrfacher Beziehung zu berücksichtigen sein. Erstens einmal bei der Herstellung von Nahrungsgemischen, die anderen Zielen dienen als gerade denjenigen von Mineralfreiheit. Es ist das ein Punkt, auf den besonders hingewiesen zu haben das Verdienst von *Berg* in seinem bekannten

2. Rücken ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ - Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ - Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7414	2,5867	2,5346	0,7401	2,7721	2,7209	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7323	2,5386	2,5181					
0,7578	2,8627	2,7442					
0,7590	2,7999	2,6799					
0,7364	2,5501	2,5179					
0,7151	2,6442	2,6861					
0,7526	3,2259	3,1146					
0,7264	2,9683	2,9683	0,7513	2,4140	2,3340	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 21. III. (nicht streng)	Nüchtern
0,7752	2,5743	2,4123					
0,7034	2,4245	2,5040					
0,7662	2,5896	2,4554					
0,7308	2,7542	2,7377					
0,7524	2,4119	2,3287					
0,7536	2,2566	2,1753					
0,7436	2,2741	2,2216					
0,7614	2,2191	2,1173					
0,7524	2,3761	2,2942	0,7449	2,8095	2,7400	Gewöhnliches Futter seit 9. VI.	Nüchtern
0,7840	2,2595	2,0937					
0,7325	2,6945	2,6721					
0,7264	3,1105	3,1105					
0,7214	3,1719	3,1940					
0,7264	3,0887	3,0887					
0,7205	2,7948	2,8177					
0,7519	2,5862	2,4985					
0,7787	2,9538	2,7554					
0,7802	2,5427	2,3673	0,7496	2,3879	2,3141	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7945	2,7353	2,5008					
0,7331	2,4169	2,3949					
0,7387	2,1177	2,0825					
0,7473	2,5578	2,4862					
0,7685	2,3104	2,1847					
0,7396	2,2951	2,2030					
0,7436	2,1097	2,0610					
0,7435	2,4232	2,3672					
0,7495	2,3929	2,3193	0,7432	2,4042	2,3500		
0,7211	2,4970	2,5154					
0,7432	2,4042	2,3500					
0,7827	2,7705	2,5713					

Buche über Vitamine ist. Es wird aber auch zu berücksichtigen sein, bei der Untersuchung des Stoffwechsels unter dem Einfluß von anderweitigen experimentell gesetzten Veränderungen, z. B. nach der Wegnahme von Drüsen mit innerer Sekretion. Da dieser Eingriff den Mineralstoffwechsel in Mitleidenschaft ziehen kann, könnte ein gewisser Einfluß auf indirektem Wege ausgeübt werden. Wer durch-

Tabelle VII

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O- Bildung g	CO ₂ - Bildung g	O ₂ - Verbrauch g
1	24. II.	2,5	20	18	135,14	0,33	1,06	1,10
2	27. II.	3,0	21	17,4	133,68	0,19	1,15	1,14
3	1. III.	3,5	21	18	132,60	0,23	1,30	1,30
4	3. III.	2,5	22	18	138,54	0,19	1,04	1,01
5	6. III.	3,0	21	17	146,89	0,27	1,51	1,38
6	8. III.	3,5	20	16	141,76	0,30	1,59	1,59
7	10. III.	3,0	21	16,5	143,68	0,33	1,19	1,18
8	14. III.	3,5	20	16	140,43	0,38	1,57	1,56
9	14. V.	4,0	22	15	138,17	0,17	1,60	1,51
10	19. V.	3,0	23	14,5	142,19	0,16	1,20	1,14
11	21. V.	3,0	23	15	140,50	0,17	1,05	1,04
12	22. V.	3,0	23	15,5	142,22	0,18	0,89	0,81
13	23. V.	3,5	23	17	141,61	0,32	1,25	1,19
14	25. V.	3,5	23	16,5	146,41	0,37	1,38	1,29
15	28. V.	3,0	23	15	152,67	0,24	1,27	1,20
16	29. V.	3,5	23	16	149,48	0,28	1,33	1,26
17	30. V.	3,0	23	15	149,01	0,28	1,19	1,12
18	4. VI.	3,0	22	15,5	151,70	0,32	1,06	1,03
19	27. VI.	3,0	23	17	144,45	0,41	0,92	0,91
20	4. VII.	4,0	21—22	19	140,00	0,67	1,42	1,42
21	9. VII.	3,0	25	22	138,21	0,25	0,93	0,93
22	11. VII.	3,0	21	23,5	137,30	0,35	0,87	0,86
23	13. VII.	3,0	27	26	138,10	0,27	0,76	0,74
24	16. VII.	3,0	25	24	136,32	0,22	0,85	0,87
25	23. VII.	3,0	25	23	131,14	0,39	0,89	0,90
26	26. VII.	3,0	24	22	128,52	0,46	1,02	0,97
27	27. VII.	3,0	23	22	127,69	0,41	0,92	0,89
28	16. VIII.	3,0	23	21	140,46	0,22	1,02	1,04
29	16. VIII.	3,0	24	22	140,20	0,26	0,99	0,99
30	18. VIII.	3,5	23	21	142,52	0,62	1,24	1,22
31	20. VIII.	3,0	22	18	139,21	0,47	1,12	1,12
32	20. VIII.	3,0	23	20	138,68	0,52	1,11	1,11
33	22. VIII.	3,0	21	19	140,83	0,51	1,15	1,12
34	22. VIII.	3,0	20	19	140,25	0,59	1,09	1,08
35	24. VIII.	3,0	22	18	138,12	0,25	1,00	0,99
36	24. VIII.	3,0	22	18	137,83	0,25	1,11	1,09
37	27. VIII.	3,0	22	17	135,48	0,23	0,99	0,99
38	27. VIII.	3,0	23	18	135,23	0,24	0,95	0,95

drungen ist von der Bedeutung von Mineralien für den Ablauf der Funktionen, den wird es nicht wundernehmen, daß der Grundumsatz, der ein so ausgezeichnetes Mittel ist, ein zusammenfassendes Bild über den funktionellen Zustand des Organismus zu gewinnen, Anzeichen von der Bedeutung der Mineralien gibt.

Was den Einfluß der Lipide angeht, so zeigen meine Versuche,

2. Schwanz ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ - Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ - Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ - Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ - Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7000	3,1375	2,2559	0,7366	3,0493	3,0078	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7328	2,8676	2,8426					
0,7264	2,8011	2,8011					
0,7480	3,0027	2,9161					
0,7949	3,4266	3,1316					
0,7264	3,2046	3,2046					
0,7326	2,7608	2,7376					
0,7311	3,1935	3,1732	0,7852	2,5501	2,4142	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 21. III. (nicht streng)	Nüchtern
0,7697	2,5878	2,3867					
0,7647	2,8131	2,6725					
0,7334	2,4911	2,4674					
0,7982	2,0860	1,8985					
0,7631	2,5220	2,4010					
0,7771	2,6930	2,5174					
0,7688	2,7747	2,6218					
0,7668	2,5421	2,4089					
0,7718	2,6620	2,5054	0,7361	2,2606	2,2310	Salz- und lipoidfreies Futter seit 16. VI. (streng)	Nüchtern
0,7478	2,3292	2,2632					
0,7344	2,1230	2,0999					
0,7264	2,5357	2,5357					
0,7264	2,2430	2,2430					
0,7349	2,1122	2,0879					
0,7461	1,8344	1,7861					
0,7097	2,0784	2,1273					
0,7184	2,2622	2,2903	0,7307	2,5271	2,5125	Lipoidfreies Futter (mit Salz) seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7639	2,6455	2,5158					
0,7509	2,4017	2,3233					
0,7125	2,4206	2,4681					
0,7264	2,3538	2,3538					
0,7383	2,4859	2,4458					
0,7264	2,6818	2,6818					
0,7264	2,6680	2,6680					
0,7459	2,7220	2,6509					
0,7332	2,5906	2,5668					
0,7338	2,4134	2,3892					
0,7398	2,6845	2,6361					
0,7264	2,4358	2,4358					
0,7264	2,3417	2,3417					

daß dieselben nicht bloß in der eigentlichen Wachstumsperiode, sondern auch im ausgewachsenen Zustande eine Rolle spielen. Es scheint, daß, sobald der Lipoidgehalt der Nahrung unter einen gewissen Grad sinkt, dies für den erwachsenen Organismus durchaus nicht gleichgültig ist.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

Ver- suchs- Nr.	Datum 1923	Ver- suchs- dauer	Tem- peratur im Kasten °C	Zimmer- tem- peratur °C	Gewicht der Ratte g	H ₂ O, Bildung g	CO ₂ , Bildung g	O ₂ , Verbrauch g
1	24. II.	2,5	20	18	141,21	0,18	0,97	0,95
2	27. II.	3,0	21	17,5	140,99	0,28	1,20	1,20
3	1. III.	2,5	22	18	143,01	0,15	0,92	0,89
4	3. III.	3,0	20	16,5	143,02	0,22	1,17	1,17
5	6. III.	3,5	21	18	149,85	0,31	1,47	1,50
6	8. III.	3,5	19	16	146,54	0,56	1,62	1,60
7	10. III.	3,0	20	16,5	145,32	0,33	1,22	1,22
8	12. III.	3,0	21,5	17	135,51	0,21	1,12	1,12
9	1. V.	3,5	23	18	163,73	0,60	1,59	1,43
10	14. V.	3,0	23	15	163,94	0,24	1,12	1,11
11	21. V.	3,5	23	15	170,68	0,21	1,61	1,47
12	22. V.	3,0	23	16	167,60	0,33	1,29	1,24
13	24. V.	3,0	23	17	166,84	0,31	1,21	1,13
14	25. V.	3,5	23	16,5	165,94	0,34	1,34	1,27
15	28. V.	3,0	23	15	166,00	0,22	1,11	1,07
16	31. V.	3,0	23	16	167,37	0,34	1,20	1,13
17	1. VI.	3,0	23	16,8	165,21	0,31	1,15	1,07
18	4. VI.	3,0	23	15,5	157,97	0,20	1,02	1,01
19	19. VI.	4,0	22	15	158,66	0,30	1,42	1,38
20	21. VI.	4,0	22	15	154,61	0,31	1,38	1,34
21	23. VI.	3,0	23	15	145,79	0,51	1,01	0,97
22	5. VII.	3,0	26	23	143,01	0,20	0,88	0,85
23	7. VII.	3,0	23	20	135,46	0,59	0,92	0,90
24	9. VII.	3,0	25	22	138,19	0,82	0,90	0,87
25	20. VII.	3,0	23	22	140,37	0,95	1,14	1,14
26	23. VII.	3,0	23	21,5	145,67	0,38	1,04	1,03
27	24. VII.	3,0	24	22	137,23	0,57	1,12	1,08
28	25. VII.	3,0	24	22	140,80	0,41	1,06	1,04
29	26. VII.	2,5	23	22	142,61	0,41	0,83	0,83
30	14. VIII.	3,0	26	24	141,03	0,20	0,83	0,74
31	14. VIII.	3,0	26	24	140,66	0,50	0,97	0,88
32	16. VIII.	3,0	24	22	131,22	0,35	0,95	0,91
33	18. VIII.	3,5	23	20,5	129,40	0,47	1,05	1,01
34	20. VIII.	3,5	23	20	133,97	0,31	1,07	1,03
35	22. VIII.	3,0	21	19	125,93	0,30	0,95	0,95
36	24. VIII.	3,0	22	18	131,25	0,27	0,93	0,73
37	24. VIII.	3,0	22	18	130,95	0,64	0,97	0,95
38	27. VIII.	3,0	20	17	134,86	0,30	1,01	0,90
39	28. VIII.	3,0	23	17	132,82	0,40	0,98	0,92

1. Durch langdauernde Ernährung mit einer lipoid- und salzfreien Kost kommt es zu einer merklichen Herabsetzung des durch den respiratorischen Stoffwechsel bestimmten Grundumsatzes.

2. Eine qualitative Veränderung findet dabei nicht statt, indem der respiratorische Quotient konstant bleibt.

3. Von den beiden Faktoren Salz- und Lipoidmangel spielt

. Kopf ♀.

Respi- rations- quotient	CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	O ₂ Verbrauch pro kg und Stunde g	Mittelwert des Respi- rations- quotienten	Mittelwert der CO ₂ Bildung pro kg und Stunde g	Mittelwert des O ₂ Verbrauches pro kg und Stunde g	Fütterung	Bemerkung.
0,7148	2,7477	2,6910	0,7304	2,8000	2,7847	Gewöhnliches Futter	Nüchtern
0,7264	2,8371	2,8371					
0,7509	2,5733	2,4893					
0,7264	2,7269	2,7269					
0,7119	2,8028	2,8600					
0,7355	3,1586	3,1195					
0,7264	2,7984	2,7984					
0,7264	2,7550	2,7550					
0,8134	2,7746	2,4780	0,7869	2,4129	2,2795	Salzfreies Futter (mit Lipoid) seit 21. III. (nicht streng)	Nüchtern
0,7330	2,2773	2,2569					
0,7956	2,6951	2,4607					
0,7557	2,5656	2,4662					
0,7779	2,4175	2,2577					
0,7665	2,3072	2,1867					
0,7536	2,2289	2,1486					
0,7714	2,3899	2,2505					
0,7807	2,3203	2,1589	0,7430	2,3506	2,2982	Salzfreie Fütterung (mit Lipoid) seit 9. VI. (streng)	Nüchtern
0,7336	2,1523	2,1312					
0,7475	2,2375	2,1745					
0,7481	2,2314	2,1667					
0,7564	2,3093	2,2178					
0,7521	2,0511	1,9812					
0,7426	2,2639	2,2147					
0,7515	2,1709	2,0986					
0,7264	2,7071	2,7071	0,7322	2,3578	2,2401	Salz- und lipoidfreie Fütterung seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7335	2,3798	2,3569					
0,7533	2,7205	2,6233					
0,7408	2,4571	2,4108					
0,7264	2,3281	2,3281					
0,8148	1,9618	1,7490					
0,8007	2,2987	2,0854					
0,7584	2,4133	2,3116					
0,7552	2,3184	2,2301	0,7322	2,3578	2,2401	Salz- und lipoidfreie Fütterung seit 27. VII. (streng)	Nüchtern
0,7546	2,2820	2,1967					
0,7264	2,5146	2,5146					
0,7264	2,3619	2,3619					
0,7417	2,4691	2,4182					
0,8152	2,4964	2,2245					
0,7738	2,4595	2,3089					

der Salzmenge die größere Rolle. Beispielsweise gelingt es, bei Fortdauer der Lipoidfreiheit der Nahrung durch Zusatz der Salze wiederum eine Erhöhung des Grundumsatzes bis zur Norm zu erzielen.

4. Den Lipoiden kommt jedoch auch eine gewisse Rolle in der Regelung des Grundumsatzes zu.

Beiträge zu einer Pharmakologie der Konzentrationsänderungen.

I. Mitteilung:

Über Wirkungen von Kallum, Calcium und Magnesium am Darm.

Von

L. Jendrassik.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 29. März 1924.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Jeder Stoff besitzt eine Konzentration, oberhalb welcher er die Funktion eines Organs dauernd zu verändern imstande ist. In pharmakologischen Versuchen, die an überlebenden Organen ausgeführt werden, zeigen sich aber auch *vorübergehende Änderungen*, deren Bedeutung und Zustandekommen bisher nur wenig erforscht sind. Diese vorübergehenden Wirkungen sind zweierlei Art:

1. Es gibt solche, die bei Beginn der Einwirkung entstehen. Solche sind die Wirkungen einfacher Amine, kleiner Dosen Atropin, des Calciums auf den Darm usw.; weiterhin der größte Teil der Adrenalinwirkungen, deren schnelles Vorübergehen bisher auf die leichte Zersetzung des Adrenalins zurückgeführt wurde.

2. Es zeigen sich oft flüchtige Veränderungen, wenn man den untersuchten Stoff aus den Organen durch Auswaschen mit frischer physiologischer Lösung entfernt.

Fügt man dem in Tyrodelösung gehängten Kaninchendarm einen wässrigen Muskelextrakt zu¹⁾, so zeigt sich eine vorübergehende Hemmung. Tauscht man die so versetzte Flüssigkeit mit reiner Tyrodelösung aus, so erfolgt eine plötzliche Kontraktur, welche sodann allmählich verschwindet. Hauptsächlich diese Erscheinung lenkte die Aufmerksamkeit des Verfassers auf diese Frage.

Die Erklärung beider Erscheinungen dürfte ein gewisses Interesse beanspruchen. Es ist nämlich wahrscheinlich, wie das bereits von früheren Autoren behauptet wurde, daß diese durch das Hinein- bzw.

¹⁾ L. Jendrassik, diese Zeitschr. 144, 520, 1924.

Herausdiffundieren der wirkenden Stoffe verursacht werden. Dies würde aber bedeuten, daß auch bei chemischen Reizen eine Veränderung (der Konzentration des betreffenden Stoffes im Organ) die Wirkung hervorruft, ähnlich den elektrischen Reizen, wobei bekanntlich die Veränderung der Stromdichte in erster Reihe von Belang ist. Behandelt die experimentelle Pharmakologie die Reaktionen lebender Organismen gegenüber chemischen Agenzien, so hat die Existenz solcher Erscheinungen für sie eine allgemeine theoretische Bedeutung. Es sollte für jede pharmakologische Wirkung festgestellt werden, inwieweit darin die einfache Anwesenheit der Stoffe und die Veränderung deren Konzentration beteiligt sind.

Eine vorübergehende Wirkung hat zum erstenmal *W. Straub*¹⁾ beschrieben (1905), als er fand, daß das Muskarin auf die Herzkammer von *Aplysia limacina* (einer Meerschnecke) nur anfangs (neg. chronotrop und inotrop) wirksam ist. Das Gift wird hierbei nicht zersetzt, da es nach Abklingen der Wirkung aus dem Herzmuskel quantitativ wiederzugewinnen ist. Bei bestehender Wirkung ist dagegen nur ein kleiner Bruchteil in die Muskulatur eingedrungen. *Straub* zog hieraus den Schluß, daß nur der Prozeß des Eindringens die Wirkung hervorruft. Er bezeichnete das Muskarin als „Potentialgift“ und stellte es in Gegensatz zum Veratrin, welches am Aplysienherzen eine dauernde Wirkung (erhöhte Reizbarkeit) entfaltet. Am Froschherzen jedoch gelang es ihm nicht, analoge Erscheinungen mit Sicherheit nachzuweisen.

In der pharmakologischen und physiologischen Literatur findet man sehr vieles über vorübergehende Wirkungen. Seit *Straubs* Arbeit wurde die Frage trotzdem keiner systematischen Bearbeitung unterzogen.

Bezüglich der beim Auswaschen auftretenden Wirkungen ist auch nicht vieles bekannt.

*O. B. Meyer*²⁾ beobachtete (1908) an Arterienstreifen, daß nach Arenalinkontrakturen oft eine weitere Verkürzung stattfand, wenn man die mit Adrenalin versetzte Lösung mit reiner Ringerlösung vertauschte. Noch auffälliger war die Erscheinung, wenn die ursprüngliche Adrenalin- kontraktur vor dem Auswaschen durch Antagonisten gehemmt war. *Trendelenburg*³⁾ sah derartige Ausspülungswirkungen an der Bronchialmuskulatur des Rindes nach Arecolin- und Pilocarpinwirkungen (1912). Aus demselben Jahre stammt die Arbeit von *P. Neukirch*⁴⁾ (aus dem Institute von *R. Magnus*), der eine solche Erscheinung näher erforscht. Nach Pilocarpinkontrakturen am überlebenden Kaninchendarm fand er oft Verkürzung beim Auswaschen, besonders dann, wenn nach größeren Dosen längere Zeit verstrichen ist. Das Pilocarpin wirkt hierbei auch vaguserregend, da auch die Entgiftungswirkung durch Atropin zu hemmen ist. Auch nach vorangehender Atropinisierung kommt dieselbe nicht zustande. Diese Erklärung unterstützt er auch damit, daß die Wirkung

¹⁾ *W. Straub*, Centralbl. f. Physiol. 1905, 302; Pflügers Arch. 119, 127, 1907.

²⁾ *O. B. Meyer*, Zeitschr. f. Biol. 50, 93, 1908.

³⁾ *P. Trendelenburg*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 69, 79, 1912.

⁴⁾ *P. Neukirch*, Pflügers Arch. 147, 153, 1912.

schwächer wird oder ausbleibt, wenn die neue Lösung auch etwas Pilocarpin enthält¹⁾).

In demselben Institute wurde dann die Arbeit durch *Kuyer* und *Wijsenbeek*²⁾ auch auf andere Organe und mehrere Stoffe ausgedehnt (1913). Am Katzen- und Kaninchendarm ergaben Entgiftungserregung: Physostigmin, Pilocarpin, Muscarin (optimal bei 0,1 Prom.), Tyramin, Histamin, Suprarenin. Keine Entgiftungswirkung hatten: Arecolin, g-Strophantin, BaCl₂. Am *Uterus* von Katze, Kaninchen und Ratte hatten alle am Darm wirksam gefundenen Stoffe (beim einen oder anderen der Tiere) eine Wirkung. Nach Suprarenin und Tyramin entsprach auch die Entgiftungswirkung einer Hemmung. Am Froschherzen (Straubkanüle) ließen sich bei der Ausspülung keine vorübergehenden Wirkungen beobachten.

Zweck der vorliegenden Untersuchung ist, die seit *Kuyer* und *Wijsenbeek* nicht wieder aufgenommene Untersuchung weiter zu verfolgen. Es ist von Interesse die Frage: 1. Ob derartige Wirkungen nur bei Alkaloiden vorkommen, oder auch bei Narkotika, Ionen usw. 2. Bei welchen Tieren, an welchen Organen lassen sich solche nachweisen? Ob beim Frosche überhaupt nicht, oder nur am Froschherzen nicht? Die bisherigen Untersuchungen sind ungenügend, um hierüber Endgültiges aussagen zu können. 3. Ist die Richtung der Ausspülungswirkung immer mit der ursprünglichen Wirkung identisch? Die bisherigen Angaben scheinen hierauf zu deuten. 4. Werden die Entgiftungswirkungen durch Konzentrationsunterschiede von ähnlicher Größe verursacht als die anfänglichen Wirkungen? 5. Durch ein näheres Studium der Entgiftungserscheinungen wird es am besten zu beurteilen sein, ob die *Straubsche* Erklärungsweise wirklich richtig sein kann.

Einfachheitshalber sei die folgende *Nomenklatur* empfohlen:

Jene Veränderungen, welche durch die Anwesenheit eines Stoffes in bestimmter Konzentration aufrecht erhalten werden, sind deren *bleibende* oder *manente* Wirkungen (verkürzt: *m*-Wirkung). Die vorübergehende Wirkung, welche bei Steigerung der Konzentration auftritt, ist die *Steigerungs-* oder *Augmentationswirkung* (*a*-Wirkung); während bei Verminderung der Konzentration die *Abnahmewirkungen* (*Diminutions-* oder *d*-Wirkungen) auftreten.

Mehrere Gründe sprachen dafür, um bei den Ionen (und zwar Kationen) nach Wirkungen der Konzentrationsänderung zu suchen.

¹⁾ *Neukirch* erwähnt auch eine Arbeit von *Dale* und *Laidlaw*, Journ. of Physiol. 41, 318, 1910, worin an einer Uteruskurve nach Histaminwirkung eine Ausspülungskontraktur zu sehen ist. Da aber die Erscheinung im Text ihrer Arbeit gar nicht erwähnt wird, ist es vielleicht entsprechend diese Autoren nicht zu den Beobachtern der erwähnten Erscheinung zu zählen.

²⁾ *Kuyer* und *Wijsenbeek*, Pflügers Arch. 154, 16, 1913.

Da die Salze der physiologischen Lösungen stark bzw. total dissoziiert sind, müssen die durch Änderung der KCl -, $CaCl_2$ - und $MgCl_2$ -Konzentration hervorgerufenen Wirkungen auf Rechnung der Kationen bezogen werden.

Über die Wirkungen von K und Ca auf den überlebenden Warmblüterdarm lagen bis vor kurzem nur spärliche Angaben vor. Es war bekannt, daß das Steigen im Kaliumgehalt der Lösung eine Kontraktur der Längsmuskulatur bedingt [*Bardeleben*¹⁾, *Zondek*²⁾]. Auf Zunahme des Calciums (oder Magnesiums) werden Tonus und Spontانبewegungen schwächer [*Starkenstein*³⁾, *Zondek*²⁾]. Während meiner Experimente (Sommer 1923) nahm ich Kenntnis von der Arbeit *Rosenmanns*, der diese Frage einer eingehenden Prüfung unterzog. Seine Versuche zeigen, daß die Wirkungen, so des Kaliums wie des Calciums, von den ursprünglichen Konzentrationen dieser Ionen abhängig sind. Wird nur die Konzentration des Kaliums gesteigert, so erhält man unter der normalen Konzentration Hemmung oberhalb deren Erregung. Unterhalb des normalen Wertes gibt das zugefügte Calcium auch eine umgekehrte Wirkung, nämlich Reizung. *Rosenmann* zieht aus seinen Versuchen den Schluß, daß der ursprüngliche Einfluß von K und Ca eben entgegengesetzt ist mit dem, was man bisher glaubte, da Ca reizt und K hemmt. Die erregende Wirkung durch K , die Hemmung durch Ca sind nur durch gewisse Nebeneigenschaften der Ionen bedingt und kommen nur bei der Kombination der beiden zum Vorschein. *Rosenmann* erwähnt nichts über die unmittelbare Wirkung der Konzentrationsabnahme, ebenso *E. Jannink*⁴⁾, der den Einfluß kaliumfreier Lösungen aus dem Gesichtspunkte der sogenannten Radiophysiologie untersuchte⁵⁾.

Methodik.

Die Versuche wurden am Kaninchendünndarm ausgeführt (nach *Magnus*). Die Stückchen waren 3 bis 4 cm lang, Belastung 3 bis 5 g, Vergrößerung drei- bis fünffach. Die gebrauchte Tyrodelösung hatte folgende Zusammensetzung: $NaCl$ 0,8 Proz., KCl 0,02 Proz., $CaCl_2$ (wasserfrei) 0,02 Proz., NaH_2PO_4 0,005 Proz., $NaHCO_3$ 0,1 Proz., Glucose 0,1 Proz. Bei den meisten Versuchen habe ich kein $MgCl_2$ zugefügt, da es unnötig ist und die Wirkungen beeinflußt (siehe unten).

¹⁾ Zitiert nach *Rosenmann*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 29, 334, 1922. — Vgl. auch Klin. Wochenschr. I, 2093, 1922.

²⁾ *S. G. Zondek*, Deutsch. med. Wochenschr. 1921, 1520; diese Zeitschr. 182, 362, 1922.

³⁾ *Starkenstein*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 77, 45, 1914.

⁴⁾ *E. Jannink*, Diss. Utrecht 1921.

⁵⁾ Nach Abschluß der Arbeit nehme ich Kenntnis von einer Arbeit *A. J. Clarke* (Journ. of Pharm. 18, 423, 1922), der die kontrakturerzeugende Wirkung kaliumfreier bzw. -armer Lösungen wohl angibt.

In der Versuchsanordnung war es wesentlich, dafür zu sorgen, daß die Umspülungsflüssigkeit in kurzer Zeit auszutauschen sei und unter-

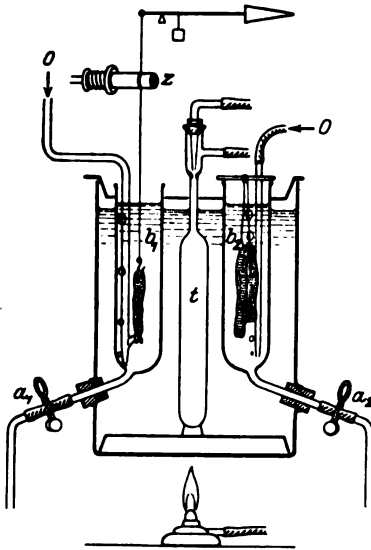


Abb. 1. Versuchsanordnung.

(b_1 = Darmgefäß, b_2 = ds für Reservedarmstück, t = Thermoregulator. a_1 und a_2 Abflußröhre. o = Einleitung des Sauerstoffs. z = Federhalter zur Fixierung des Fadens.)

denzen der Darm keine Erschütterung erleide. Die Darmbehälter sind von 40 bzw. 80 ccm Inhalt. Ihr Abflußrohr mündet außerhalb des Wasserbades (deren Temperatur üblicherweise auf 37° reguliert wird, siehe Abb. 1). Das Rohr, durch welches Sauerstoff in die Lösung geleitet wird, trägt ein Häkchen. Hierauf wird der Darm gehängt. Das obere Ende wird durch einen Faden mit dem Schreibhebel verbunden. Beim Wechseln der Perfu-sionsflüssigkeit wird der Faden mit einem hierfür konstruierten Halter fixiert¹⁾. So erfährt der Darm keine Erschütterungen. Dies geschieht am zweckmäßigsten in der Systole und stört die Motilität nicht.

V Versuchsergebnisse.

Kalium. Die Wirkung der Konzentrationsverminderung ist verschieden, je nachdem die Ausgangskonzentration unterhalb oder oberhalb der normalen 0,02proz. KCl liegt. Unterhalb von 0,02 Proz. wirkt die Kon-

zentrationenabnahme immer tonus- und bewegungssteigernd, desto stärker, je größer der Konzentrationsunterschied ist. Nimmt man nach einer normal zusammengesetzten Tyrodelösung eine kaliumfreie, so entsteht immer eine starke, meistens maximale Kontraktur (siehe Abb. 2 und 3). Dies ist aber kein bleibender Zustand. Nach einigen (4 bis 6) Minuten kehrt der Tonus auf das ursprüngliche Niveau zurück. (Im größeren Teil der Fälle hat dann die Frequenz der Bewegungen etwas abgenommen.) Im weiteren verursacht die kaliumfreie Flüssigkeit für den Darm nur wenig Schaden. (Nach Jannink nur darum, weil aus dem Darm fortwährend Kalium in die Lösung diffundiert.)

Verringert man den KCl-Gehalt stufenweise, so erscheint schon bei einer Verminderung des Kaliumgehaltes von 0,02 auf 0,017 Proz. eine wahrnehmbare vorübergehende Erregung. Bei Verminderung von 0,02 auf 0,01 Proz. tritt eine ziemlich starke Kontraktur auf, doch ist dieselbe schwächer und von kürzerer Dauer als die durch kaliumfreie Lösung verursachte. Bei dem Wechsel von 0,01 auf 0,005 und 0,005 Proz. auf 0 sind die Kontrakturen noch kleiner und kurzdauernder.

Anders liegen die Verhältnisse, wenn man von einer höheren Kaliumkonzentration als 0,02 Proz. ausgehend die Konzentration verringert. Fügt man zur normalen Tyrodelösung KCl (z. B. auf 80 ccm 0,2 bis 0,3 ccm einer 10proz. Lösung, steigerte daher die Konzentration auf $\pm 0,04$ bis

¹⁾ Vgl. L. Jendrassik, l. c.

0,06 Proz.), so entsteht eine *manente* Tonuszunahme. Bei noch etwas höheren Dosen kann dies in eine maximal starke Kontraktur übergehen. (Die Veränderung des osmotischen Druckes spielt auch hierbei keine Rolle.) Wird nun normale Tyrodelösung gegeben, so fällt der Tonus unmittelbar schnell herab. Auch wenn der Darm eine viertel bis eine halbe Stunde in der Lösung mit höherem K-Gehalt verweilt, finden wir bei der Ausspülung keine weitere Tonuszunahme. Die Abnahme der Konzentration oberhalb der normalen Konzentration scheint daher wirkungslos zu sein. Auffallend ist aber, daß der Tonusabfall nicht glatt erfolgt (wie z. B. nach einer Cholinkontraktur), sondern sich wellenförmig gestaltet. Ob diese kleineren Wellen als positive *d*-Wirkungen aufzufassen sind, ist noch fraglich. Wir begehen gewiß keinen großen Fehler, wenn wir vorläufig die mehr



Abb. 2.

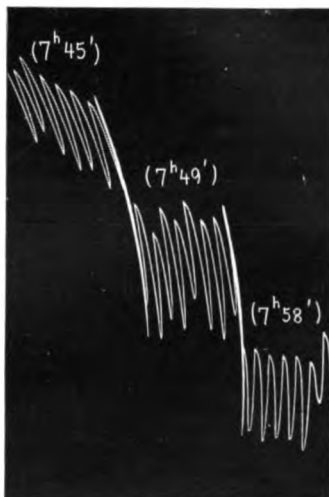


Abb. 3.

Abb. 2 u. 3. Wirkung von kaliumfreier Tyrodelösung (Ty-k) nach normaler Tyrodelösung: vorübergehende Kontraktur. (Jede Abbildung ist 3:5 verkleinert.)

augenfälligen Verhältnisse in Betracht ziehen. Ebenso berücksichtigen wir im folgenden nicht jene Erscheinung, daß der Tonus hierbei unter das ursprüngliche Niveau sinkt. Dies deutet nämlich nicht unbedingt auf eine Diminutionshemmung, sie könnte ebenso durch die vorherige Ermüdung der Muskulatur erzeugt werden.

War die Konzentration des KCl nur etwas oberhalb 0,02 Proz., so ist noch beim Wechsel auf normale Tyrode eine kleine Erregungswelle zu bemerken, welche nach 5 bis 10 Sekunden Latenzzeit auftritt. Eine wahrscheinliche Erklärung hierfür ist, daß in diesen Fällen die Grenzkonzentration etwas höher als 0,02 Proz. liegt.

Hier seien bemerkt die Veränderungen, die bei *Steigerung der KCl-Konzentration* zu beobachten sind. Die Wirkung oberhalb des normalen Prozentgehaltes wurde bereits erwähnt. Ob bei der Reizung neben der *manenten* Wirkung auch eine *Augmentationserregung* vorhanden ist, kann nicht ohne weiteres entschieden werden. Unterhalb der 0,02proz. Konzentration sehen wir aber bei Steigerung der Konzentration das Gegenteil: die Bewegungen verschwinden, auch der Tonus sinkt oft beträchtlich.

Dieser Zustand kann bei einem Wechsel der K-freien Lösung auf normale Tyrode 15 bis 20 Minuten, aber auch noch länger dauern. Jedoch ist diese Wirkung keine bleibende, die Bewegungen kehren allmählich doch immer wieder zurück. Steigert man den K-Gehalt nur stufenweise, so sind die Lähmungen kurzdauernder. Diese Erscheinung ist schon durch *Jannink*¹⁾, ebenso *Rosenmann*²⁾ beschrieben. Sie ist aller Wahrscheinlichkeit nach mit dem sogenannten *Kaliumparadoxon* identisch, welches für das Herz zuerst von *Libbrecht*³⁾ beschrieben wurde und seitdem durch andere Autoren auch für andere Organe [vgl. auch *Zwaardemaker*⁴⁾, *Busquet*⁵⁾, *de Raad*⁶⁾] bestätigt wurde. Es scheint eine allgemeine Erscheinung zu sein, daß die sich automatisch bewegenden Organe beim Steigern der niederen Kaliumkonzentration ihre Bewegungen für eine Weile einstellen. Für das Verständnis der Kaliumwirkung könnte es verwertbar sein, daß entgegengesetzt innervierte Organe, wie Herz und Darm, hierbei sich gleichsinnig verhalten.

Die beschriebenen Wirkungen der Kaliumkonzentrationsveränderungen seien in der untenstehenden Tabelle zusammengefaßt. + bedeutet Erregung. — Hemmung, 0 = kein Effekt. Manente Wirkungen sind in Klammern gesetzt bezeichnet.

	Unterhalb 0,02 Proz.	Oberhalb 0,02 Proz.
a-Wirkung . . .	— (0)	0 (+)
d-Wirkung . . .	+ (0)	0 (—)

Es ist auffallend, daß 0,02 Proz. so für die Konzentrationszunahme, wie für die Abnahme die Grenze bildet, wo sich die Richtung der Effekte verändert. Man kann sie deshalb als „kritische Konzentration“ benennen. Die Wirkungen unterhalb dieser Konzentration können dann einfach als *hypokritische*, über dieser als *hyperkritische* bezeichnet werden.

Beim *Calcium* bewirkt eine Verminderung der Konzentration unter dem normalen Wert (in Mg-freier Lösung) dem K ähnlich eine starke vorübergehende Kontraktur. Ein Unterschied gegenüber dem Kalium zeigt sich aber darin, daß die stärkste Wirkung beim Wechsel von 0,02 Proz. CaCl₂ auf 0,007 bzw. 0,005 Proz. zustande kommt (Abb. 4). In diesen Lösungen bestehen auch die Spontanbewegungen längere Zeit. Wechselt man die normale Tyrodelösung unmittelbar auf Ca-freie Lösung, so ist die Kontraktur weniger hoch, von kürzerer Dauer und geht mit dem Verschwinden der Spontanbewegungen einher. Bei dem Wechseln von 0,007 Proz. auf 0, oder 0,005 Proz. auf 0, sind die Kontrakturen kleiner (vgl. Abb. 6).

Steigern wir die CaCl₂-Konzentration, so zeigt sich bei dem Wechsel von 0 auf 0,005 bis 0,007 Proz. eine vorübergehende kleine Kontraktur, welcher das Wiedererscheinen des Automatismus folgt (Abb. 6). Bis $\pm$ 0,007 Proz. CaCl₂ bewirkt daher das Calcium eine augmentative und manente Reizung. Der kritische Punkt liegt für Calcium bei dieser

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ *W. Libbrecht*, Arch. intern. de physiol. 16, 448, 1921.

⁴⁾ *H. Zwaardemaker*, Klin. Wochenschr. 1, 1922.

⁵⁾ *H. Busquet*, C. r. Soc. Biol. 85, 1142, 1921; 86, 106, 1922.

⁶⁾ *H. de Raad*, Diss. Utrecht 1922.

Konzentration. Wenn wir nämlich die Konzentration weiter steigern, erhalten wir eine vorübergehende Lähmung der Bewegungen (Calciumparadoxon) (Abb. 5). Diese Lähmung dauert desto länger, je tiefer die Ausgangskonzentration und je höher die neue Konzentration liegt. Oberhalb 0,03 bis 0,04 Proz. kann die Lähmung zu einer manenten werden.

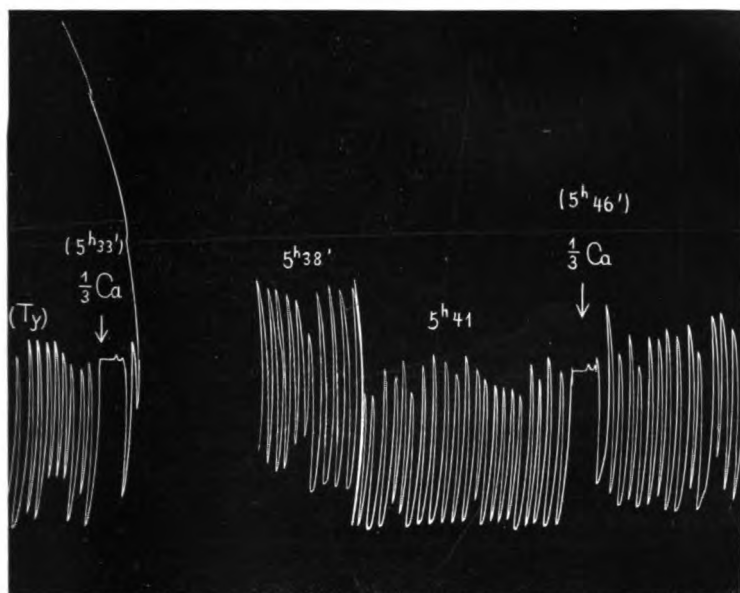


Abb. 4. $\frac{1}{3}$ Ca = Tyrodelösung mit 0,007 Proz. CaCl_2 nach normaler Tyrodelösung verabreicht. — Die Wiederholung wirkungslos.

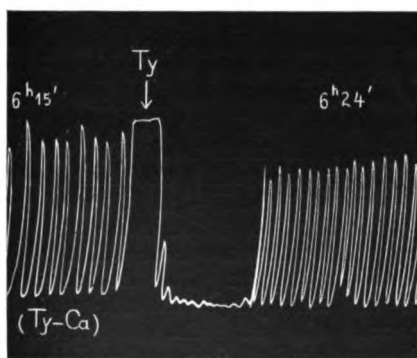


Abb. 5. Calciumparadoxon. — Bei Ty normale Tyrodelösung nach calciumarmer Lösung (0,007 Proz.) gegeben.

Verringern wir die Calciumkonzentration oberhalb des normalen Wertes, so kommt auch Reizung zustande. Abb. 7 zeigt einen solchen Versuch. Durch Zufügen von CaCl_2 zur normalen Tyrodelösung tritt zuerst die hemmende Wirkung von Ca ein; wechselt man nun nach ± 3 Minuten die Flüssigkeit wieder auf normale Tyrode um, so entsteht eine vorübergehende

Kontraktur, welche sich darin kundgibt, daß der Tonus sich für $\pm \frac{1}{2}$ Minute über das ursprüngliche Niveau erhebt. Nachher sinkt er zum normalen Werte wieder zurück. (Im Gegensatz zu allen bereits erwähnten Erscheinungen tritt diese Wirkung nicht ganz konstant auf.)

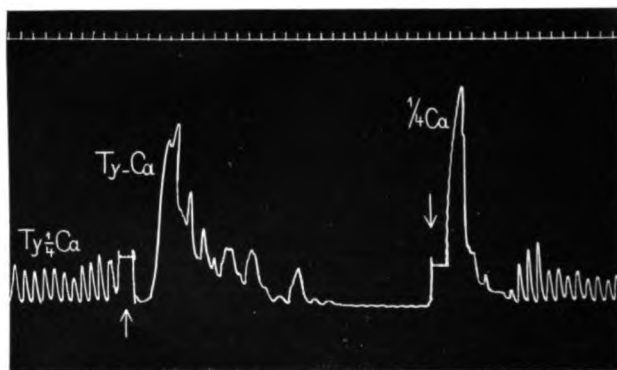


Abb. 6. Ty-Ca = Tyrodelösung ohne Ca. — $\frac{1}{4}$ Ca = Tyrodelösung mit 0,005 Proz. CaCl_2 .

Die Verringerung der Calciumionenkonzentration ist daher (als Diminutionswirkung) immer eine Reizwirkung, und zwar ist sie am stärksten in der Nähe der kritischen Konzentration. Steigerung der Konzentration bewirkt unterhalb der kritischen Konzentration Reizung, oberhalb deren diminutive, noch höher manente Lähmung.

	Unterhalb 0,007 Proz.	Oberhalb 0,007 Proz.
<i>a</i> -Wirkung . . .	+ (+)	— (0, —)
<i>d</i> -Wirkung . . .	+ (—)	+ (+)

Das **Magnesium** ist als Chlorid in 0,01 Proz. ein gebräuchlicher Bestandteil der Tyrodelösung, obzwar es zur Aufrechterhaltung der normalen Darmtätigkeit nicht unbedingt notwendig ist. Eine Tyrodelösung mit der üblichen Konzentration an K und Ca verursacht bei Steigerung des Mg-Gehaltes so unterhalb wie oberhalb der 0,01 Proz. immer eine Lähmung (bis 0,06 Proz. untersucht). Dementsprechend, wenn wir an Stelle einer Mg-freien Tyrodelösung eine Mg-enthaltende nehmen, verkleinert sich die Amplitude der Bewegungen. Durch Mg-freie Lösung wird sie wieder erhöht. Durch Verringern der Konzentration oberhalb des normalen Wertes (von 0,02 bis 0,06 Proz. auf 0,01) erhalten wir eine ähnliche Wirkung, wie beim Ca: vorübergehende Tonussteigerung über das normale Niveau (oft mit einem Höherwerden der Bewegungsamplitude und Frequenzsteigerung einhergehend). Doch auch dies tritt nicht völlig regelmäßig auf. Zwischen den untersuchten Grenzen ist die Augmentations- bzw. manente Wirkung der Konzentrationssteigerung von Mg —, die Diminutionswirkung +.

Auf Grund dieser Ergebnisse können wir aber noch nicht den Schluß ziehen, daß es für Mg — im Unterschiede von Ca und K — keine kritische Konzentration gibt. Es ist leicht möglich, daß Ca und Mg als zweiwertige Ionen auch für den Darm einander in gewissem Sinne vertreten können. Darum erhalten wir für Mg in Anwesenheit von Ca immer den hohen Ca-Konzentrationen ähnliche Verhältnisse.

Es zeigen sich auch gewisse **Zusammenhänge** in den Wirkungen der Konzentrationsänderungen der verschiedenen Ionen.

In Lösungen ohne Kalium ist die hyperkritische Diminutionserregung verschwunden (nur ausnahmsweise angedeutet). Der in Abb. 8 abgebildete Versuch ist eine halbe Stunde nach dem Versuch der Abb. 7 ausgeführt.

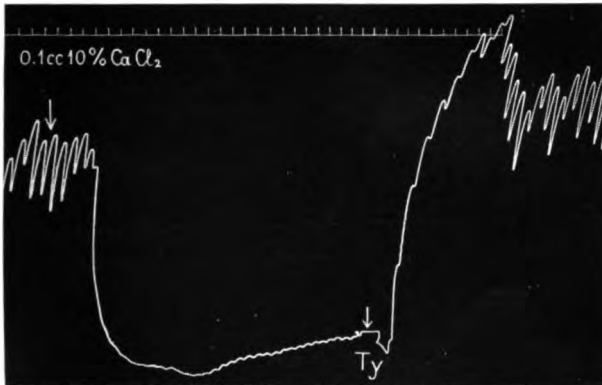


Abb. 7. Wirkung der Steigerung und Verringerung höherer Calciumkonzentrationen. Ty = normale Tyrodolösung.

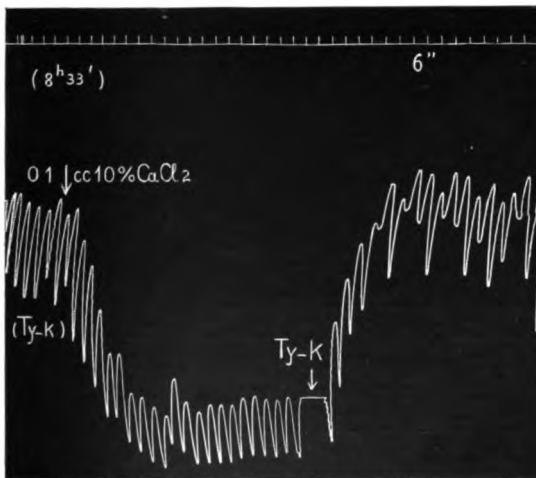


Abb. 8. Versuch wie in Abb. 7 mit kaliumfreien Lösungen ausgeführt.

Derselbe Zusatz von CaCl_2 konnte hier außerdem die Bewegungen nicht ganz zum Verschwinden bringen.

Verringern wir die Ca-Konzentration in Mg-enhaltender Lösung, so ist die zustandekommende Reizung viel schwächer als in Mg-freier. Wechselt man von normaler (0,02 Proz.) Konzentration auf Ca-freie Lösung, so tritt sogar Hemmung (Tonussenkung und Kleinerwerden der Bewegungen) auf.

Folgerungen.

Die beschriebenen Versuche zeigen, daß, wenn der K-, Ca- bzw. Mg-Gehalt der den Darm umgebenden Tyrodelösung verringert wird, vorübergehende Wirkungen auftreten. Besonders die Kontraktionen von K und Ca bei niederen Konzentrationen sind auffällig stark, viel stärker als die durch Alkaloide verursachte, und treten konstant und regelmäßig auf.

Daß diese Wirkungen durch die Veränderung der Konzentration im Organe selbst (Herausdiffundieren des betreffenden Ions) verursacht werden, zeigt schon der Umstand, daß die Veränderungen nicht konstant sind und nach einigen Minuten völlig verschwinden. Der Beweiskraft dieses Argumentes könnte man entgegenstellen:

1. Vorübergehende Wirkungen müssen bei einer Konzentrationsverringering (im allgemeinen Konzentrationsänderung) auch dann auftreten, wenn einer Zwischenkonzentration eine ganz andere manente Wirkung als den Anfangs- und Endkonzentrationen entsprechen würde. Wenn z. B. A-Ion in c-Konzentration in der Perfusionsflüssigkeit vorhanden ist, und bei c- und 0-Konzentrationen der Tonus manent niedrig, bei Konzentration $c/2$ manent hoch ist, so muß beim Wechsel von c auf 0 eine vorübergehende Kontraktur auftreten auch dann, wenn überhaupt nur manente Wirkungen existieren und die Konzentrationsänderung im Organ als solche keinen Einfluß hat. Wir dürfen also eine vorübergehende Funktionsänderung nur dann auf die Rechnung der Konzentrationsänderung schieben, wenn eine Zwischenreaktion nicht anders wirkt. In den mitgeteilten Versuchen war dies nicht der Fall.

2. Es wäre zu denken, daß die Wirkungen der Konzentrationsabnahme eigentlich manente Wirkungen sind, welche aber durch Herausdiffundieren desselben Ions aus dem Organ zum Verschwinden kommen. Bezüglich des Kaliums ist es auch bekannt, daß es aus der Muskulatur in meßbarer Menge in die Umspülflüssigkeit diffundiert. Am Kaninchendarm hat Jannink diesbezüglich Untersuchungen angestellt¹⁾. Auf ein Herausdiffundieren des Kaliums weist auch der Umstand hin, daß, wenn die K-freie Lösung in längeren Zeitintervallen gewechselt wird, wir je nachdem eine stärkere oder schwächere Kontraktur erhalten, wie lange die Lösung mit dem Organ in Berührung war. Nach längerer Zeit ist wahrscheinlich die Konzentration des herausdiffundierten Kaliums schon größer, darum hat das Wechseln auf kaliumfreie Lösung einen stärkeren Einfluß. Auf diesem Wege können wir aber auch das Unzutreffende dieses Gegenargumentes beweisen. Wenn wir nämlich die K-freie Tyrode in gleichen Zeit-

¹⁾ l. c.

intervallen (3 bis 4 Minuten) nacheinander wechseln, so kommen immer kleinere und kleinere Kontraktionen zustande, nach dem vierten und fünften Wechsel schon gar keine mehr (zum Zeichen, daß die Lösung schon praktisch K-frei ist). Der *Tonus* des Darmes ist dabei *derselbe* als in normaler Tyrodelösung, der wirklich K-freien Lösung entspricht daher kein höherer. Die erwähnte Erklärungsweise ist daher — wenigstens für Kalium — sicher nicht zutreffend.

Es versteht sich von selbst, daß eine Konzentrationsveränderung in der Perfusionslösung nur dadurch wirken kann, daß sie eine Konzentrationsveränderung im Organ hervorruft (im Innern der Zelle oder an der Oberfläche ist hier gleichgültig). In die kaliumfreie Lösung diffundieren K-Ionen (Kaliumverbindungen) aus den Zellen heraus, wahrscheinlich auch von dort, wo das Kalium seine spezifische Wirkung entfaltet. Die Abnahme ihrer Konzentration an dieser Stelle könnte die Ursache der Diminutionswirkungen sein. Näheres über den Mechanismus des Prozesses können wir nicht wissen, darum ist es empfehlenswert, diese Wirkungen rein *symptomatisch* zu betrachten. Die Diminutionswirkungen sind also jene vorübergehenden Änderungen, welche bei Abnahme der Konzentration in der Umspülungsflüssigkeit auftreten, wenn sie auf Grund der im ersten oder zweiten Punkte erwähnten keine Erklärung finden.

Es ist nämlich leicht möglich, daß auch die anderen Ionen der Lösung hierbei eine Rolle spielen. Hierauf deuten schon die oben erwähnten Beispiele. So könnten wir die Diminutionswirkungen auf eine relative Augmentationswirkung des Antagonisten zurückführen. Der Verlauf der Erscheinungen kann aber nicht mit einem so einfachen Schema erklärt werden. Nimmt die Konzentration des Kaliums ab, so kommt das Calcium in Überschuß und man würde eine lähmende Wirkung des Calciums erwarten. Hingegen erfolgt Erregung, was auf diese Weise nicht zu deuten ist. Dies schließt aber ein Zusammenwirken der Ionen nicht aus.

In der letzten Zeit ist es bekannt geworden, wie die Alkaloidwirkungen durch Ionen beeinflußt werden [z. B. *Tetzner* und *Turoid*¹⁾, *Rosenmann*²⁾]. Diese Zusammenhänge müssen auch bei der Beurteilung der durch Alkaloide verursachten Augmentations- und Diminutionswirkungen in Betracht gezogen werden.

In den beschriebenen Versuchen finden wir typische Beispiele der *Augmentationswirkungen*. Daß solche auch durch Ionen hervorgerufen sind, bildet eine sichere Stütze für deren Existenz. Für hochwirksame Verbindungen, die in der Perfusionsflüssigkeit nur in kleinen Konzentrationen vorhanden sind, besteht immer die Möglichkeit, daß sie eine Zersetzung erleiden, oder, von anderen Gewebsteilen gebunden, dem Wirkungsort entzogen werden. Für die Ionen der normalen Tyrodelösung kann das sicher nicht der Fall sein.

¹⁾ *Tetzner* und *Turoid*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 24, 1, 1921.

²⁾ *Rosenmann*, l. c.

Es ist auffallend, wie *verschieden die Zeitdauer* der durch Konzentrationsänderung hervorgerufenen Wirkungen sein kann. So dauert die Kontraktur, die beim Wechsel von 0,007 Proz. CaCl_2 auf Ca-freie Lösung entsteht, oft nur 10 bis 30 Sekunden. Das Kaliumparadoxon dauerte hingegen gewöhnlich 10 bis 15, in einem Falle auch 40 Minuten. Die Wirkungsdauer könnte durch zwei Momente verkürzt werden. Einmal, wenn die manente Wirkung, welche der neu gegebenen Lösung entspricht, sehr plötzlich einsetzt (schon bei einer kleinen Veränderung der früheren Konzentration im Organe). In diesem Falle macht die *a*- oder *d*-Wirkung sehr schnell der manenten Platz. Besonders dann ist dies möglich, wenn die Richtung der manenten Wirkung den Änderungswirkungen entgegengesetzt ist. In Ca-freien Lösungen (z. B.) verschwinden die Darmbewegungen. Wahrscheinlich dieser Umstand macht der Diminutionskontraktur ein kurzes Ende. Enthält die Lösung nur wenig Ca, z. B. beim Wechsel von 0,02 auf 0,007, so dauert die Kontraktur auch länger (5 bis 6 Minuten).

Der andere Umstand, der die Wirkungsdauer beschränken kann, ist der Einfluß des herausdiffundierten Ions. Dies bezieht sich besonders auf Kalium. Da in kaliumfreier (-armer) Flüssigkeit das Höherwerden der Konzentration den Darm lähmt, muß das herausdiffundierte Ion im Verschwinden der Kontraktur mithelfen. Dies könnte erklären, warum die hypokritische *a*-Wirkung beim Kalium länger als die *d*-Wirkung bestehen kann.

(Drittens müssen wir noch mit der Möglichkeit rechnen, daß die Veränderungswirkung selbst nicht notwendigerweise von einheitlicher Richtung zu sein braucht. Es wäre zu denken, daß die starke Abnahme der (Ca^{++}) nur anfangs reizt, später selbst lähmt, etwa durch Sympathicusreizung.)

Auffallend ist das Bestehen der kritischen Konzentration, ebenso daß diese für die verschiedenen Wirkungsarten zusammenfallen. Besonders beim Kalium ist das ausgeprägt vorhanden. Hier fällt sie mit der normalen, für den Darm üblichen Konzentration wohl überein. Seit den Untersuchungen von *S. Ringer* wurden die optimalen Salzkonzentrationen der physiologischen Lösungen empirisch ermittelt. Weist das Zusammenfallen der kritischen mit der normalen Konzentration nicht dahin, daß einfach die kritische Konzentration die optimale ist? Dies würde eine neue Methode zum Aufsuchen dieser Konzentrationen bedeuten. Beim Calcium liegt die kritische unterhalb der normalen. Dies würde dann bedeuten, daß die Calciumkonzentration für den Darm in der Tyrodelösung zu hoch genommen ist.

Von anderer Seite gesehen, bilden die beschriebenen Erscheinungen Beiträge zur Pharmakologie, auch Physiologie dieser Ionen. Verschiedene neue Ergebnisse deuten dahin, daß den Kationen des Blutes im feineren Mechanismus der Lebensfunktionen eine noch viel größere Bedeutung zukommt, als man das noch vor kurzem glauben konnte. So scheint z. B. K und Ca bei der Funktion der vegetativen Nerven irgendwie beteiligt zu sein. Laut der bekannten Theorie von *Zondek*¹⁾

¹⁾ *S. G. Zondek*, diese Zeitschr. 132, 362, 1922.

[mit welcher neue Ergebnisse der Höberschen Schule im Einklang zu stehen scheinen¹⁾] würden die parasymphathischen Nerven dadurch wirken, daß sie eine lokale Kaliumkonzentrierung (die sympathischen eine Calciumkonzentrierung) hervorrufen. Auf Grund der Kenntnis der Augmentations- und Diminutionswirkungen muß nun auch die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß der Prozeß der Konzentrationsänderung wirksam ist. Jedenfalls entbehrt jede Theorie, die etwas auf Grund der Ionenwirkungen erklären will, ihre sichere Grundlage, solange die betreffenden Ionenwirkungen nicht genügend bekannt sind.

Zusammenfassung.

1. Verringert man die Kaliumkonzentration der umspülenden Tyrodelösung, so erfolgt eine starke Kontraktur des Kaninchendarms, welche aber nach einigen Minuten allmählich verschwindet. Bei Konzentrationen über 0,02 Proz. hat dessen Abnahme keine Wirkung.

2. Wird die Kaliumkonzentration unterhalb 0,02 Proz. KCl gesteigert, so erscheint eine vorübergehende Lähmung. Erhöht man den KCl-Gehalt über 0,02 Proz., so ist die zustande kommende Kontraktur konstant.

3. Die Verringerung der Ca-Konzentration (in Mg-freier Lösung) hat immer eine vorübergehende Reizung zur Folge (zwischen 0,02 bis 0,007 Proz. am stärksten). Das Steigen in der Konzentration wirkt bis auf 0,007 Proz. erregend, darüber vorübergehend hemmend. Über $\pm 0,05$ Proz. CaCl_2 bleibt die Hemmung konstant bestehen.

4. In Lösungen mit normalem K- und Ca-Gehalt bewirkt die Steigerung der Mg-Konzentration eine vorübergehende bzw. bleibende Lähmung, die Abnahme vorübergehende Reizung.

5. All die vorübergehenden Wirkungen, die bei Veränderung der Konzentration auftreten, können nur dann erklärt werden, wenn man annimmt, daß der Prozeß der Konzentrationsänderung im Organe einen fördernden oder hemmenden Reiz bilden kann.

6. Auch Ionen sind daher imstande, derartige Wirkungen hervorzurufen. Die Wirkungen der Konzentrationsabnahme (*Diminutionswirkungen*) sind den Steigerungs- (*Augmentations-*) Wirkungen in den meisten Fällen entgegengesetzt gerichtet.

¹⁾ Okamoto, Klin. Wochenschr. 8, Nr. 2, 1924.

Hefeeiweiß als Antigen.

Von

H. Lüers und F. Ottensooser.

(Aus dem Laboratorium für angewandte Chemie der Technischen Hochschule in München.)

(Eingegangen am 29. März 1924.)

Zweck der vorliegenden Studie war es, die beiden durch chemische Methoden genügend charakterisierten¹⁾ Proteine der Hefe, das Albumin (Cerevisin) und das Phosphorprotein (Zymocasein) auch auf biologischem Wege näher zu differenzieren. Ihre serologische Prüfung ist geeignet, das Spezifitätsproblem zu beleuchten. Ferner sollte, auf den dabei erzielten Resultaten weiterbauend, die Frage gelöst werden, ob in einer vergorenen Flüssigkeit auf biologischem Wege Hefeeiweiß, das aus der Zelle der gärenden Hefe stammt, nachzuweisen ist. Dieser Frage kommt nämlich hohe praktische Bedeutung zu für die Kenntnis der Pasteurisirerübungen des Bieres, die den Exportbrauereien große Schwierigkeiten machen.

Die Arbeit gliedert sich in folgende Teile:

1. Isolierung der Hefeeiweißkörper.
2. Die Antisera.
3. Nachweis von Hefeeiweiß in vergorenen Flüssigkeiten.

1. Isolierung der Hefeeiweißkörper.

Die Darstellung der beiden Hefeeiweißkörper lehnte sich an die *Thomassche* Methode an. Modifiziert wurde sie, indem durch Berücksichtigung des isoelektrischen Punktes des Zymocaseins die Ausbeuten verbessert und indem neutrale Eiweißlösungen zur Injektion gewonnen wurden.

¹⁾ *P. Thomas*, Recherches biochimiques sur les protéiques de la levure. Laval 1919; *A. Fodor*, Kolloid-Zeitschr. 27, 58, 1920; 29, 20, 1921; *H. Lüers* und *M. Landauer*, Zeitschr. f. Elektrochem. 1922, S. 341; *H. Lüers* und *K. Schuster*, Kolloid-Zeitschr. 32, 334, 1923; weitere Literaturangaben finden sich bei *J. Bayer*, l. c., und bei *J. Meisenheimer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 104, 229, 1919.

Aus 200 g gewaschener¹⁾ ²⁾ und abgenutzter Preßhefe (Löwenbrauerei München) werden im Warmluftstrom 50 g Trockenhefe erhalten und fein pulverisiert. Die Ausbeute an Proteinen wird so fast viermal so groß, als bei Ätherplasmolyse. Nach Versetzen der Trockenhefe mit 500 ccm auf 36° vorgewärmten destillierten Wassers bleibt das Gemisch unter mehrfachem Umschütteln 6½ Stunden im Brutschrank bei 36°. Hierauf fügt man 70,4 ccm n Natriumacetat + 55 ccm n Essigsäure zu. Es wird also, da das Zymocasein nach *Thomas* bei $p_H = 6,3$ bis 6,8 auszufallen beginnt, hier p_H der Puffermischung = 4,5 gewählt, wobei die Pufferwirkung der Eiweißkörper nicht mit eingerechnet ist. Die Endotryptasewirkung macht sich unter diesen Bedingungen noch nicht in störender Weise bemerkbar³⁾. 1½ stündiges Stehen im Eisschrank bei 3° vervollständigt die Ausfällung des Zymocaseins. Das Gesamtgemisch kann nun entweder zentrifugiert werden nebst Filtration der leicht getrübbten überstehenden Flüssigkeit, die mit etwas Bodensatz aufgeschlämmt wird. Oder man verteilt es auf mehrere Filter und filtriert über Nacht im Eisschrank. Wenn das Filtrat noch leicht opalesziert, wird es nochmals auf das gleiche Filter gegeben; feine, faserige Flöckchen, die sich zuweilen bilden, bleiben bei Filtration durch ein doppeltes Filter zurück. Abkürzung der Operation durch Verbacken mit Kieselgur und Auspressen in der Buchnerpresse empfiehlt sich nicht, weil das Segeltuch des Preßbeutels viel Cerevisin zurückhält. Das Filtrat vom Zymocasein muß auf Essigsäurezusatz klar bleiben; der Eiweißgehalt betrug darin in einem Versuch 1 Proz. (gravimetrische Bestimmung des Koagulums). Es waren also an diesem Punkt des Trennungsganges etwa 5 g Albumin aus 50 g Trockenhefe (= 10 Proz. vom Ausgangsmaterial) durch Koagulation zu erhalten gewesen.

Die Ausbeute ist fast doppelt so groß als bei *Thomas* (22,8 g Cerevisin aus 400 g Trockenhefe). Dies beruht hauptsächlich auf Berücksichtigung der optimalen Wasserstoffzahl, aber auch darauf, daß die von uns verarbeiteten Hefemengen kleiner waren, wodurch die Dauer der Operationen und damit der Endotryptasewirkung abgekürzt wird.

Das Albumin wird mit etwa 300 g Ammonsulfat (50 bis 65 g auf 100 ccm Flüssigkeit) ausgesalzen, der Niederschlag auf mehreren Filtern gesammelt, mit gesättigter Ammonsulfatlösung zweimal gewaschen und in 150 ccm destillierten Wassers gelöst; Eiweißgehalt der Lösung = 0,5 Proz.; also noch vorhanden 0,75 g.

Zentrifugieren des Ammonsulfatniederschlages ist unzweckmäßig, weil er sich fest zusammenballt und dabei schwerer löslich wird. Man entfernt den Niederschlag vom Filter und verrührt ihn mit wenig Wasser, bis eine gelbliche, opaleszierende Lösung entsteht. Schließlich wird im Eisschrank gegen destilliertes Wasser, das mit einem Kühlmantel aus Eis umgeben ist,

¹⁾ *Sedlmayer*, Zeitschr. f. ges. Brauwesen. Neue Folge 26, Nr. 24 und 25, 1903; *J. Bayer*, Über die durch Plasmolyse gewinnbaren Eiweißkörper der Unterhefe und das Sterin der Hefe.; I.-D. Techn. Hochschule München 1921; Gärungsschem. Laboratorium.

²⁾ Der Verlauf der Operationen und die Ausbeuten gestalten sich ebenso bei ungewaschener Hefe.

³⁾ *Hahn* und *Geret* in *Ed. Buchner, H. Buchner* und *M. Hahn*, Die Zymasegärung, II. Teil. München und Berlin 1903. Über die Hefeendotryptase.

bis zum Verschwinden der SO_4^{--} -Reaktion in der Außenflüssigkeit 2 bis 3 Tage lang dialysiert. Die Dialyse wird in einer Schweinsblase unter Zusatz einiger Tropfen Chloroform vorgenommen und täglich zwei- bis dreimal das destillierte Wasser erneuert. Die erhaltene filtrierte Cerevisinlösung zeigt nach mehrwöchigem Stehen nur geringe Flöckchenausscheidung und keine wesentliche Abnahme des Eiweißgehaltes. Aber bei der Dialyse selbst sank der Eiweißgehalt nochmals, und zwar z. B. auf die Hälfte (0,25 Proz., 0,38 g), so daß nur etwa ein Dreizehntel der ursprünglichen Eiweißmenge gewonnen wurde.

Aus dem Säurekoagulum ist das Zymocasein sofort oder erst nach Tagen — die Ausbeute wird dadurch nicht beeinflusst — mit 0,5proz. Natriumcarbonatlösung zu extrahieren. Aus der Lösung wird es mit n/10 Salzsäure ausgefällt. Bei Umfällung des Zymocaseins zwecks Reinigung (mit n/10 Lauge und Säure) treten starke Verluste auf, wenn man vom getrockneten Pulver ausgeht. Das Zymocasein gibt nämlich nach *Thomas* bei längerer Einwirkung von Alkali seine Phosphorsäure zum Teil ab und ist dann nur noch zum Teil durch Essigsäure fällbar. So erhielten wir aus 1 g trockenen Zymocaseins nach Umfällung nur 0,25 g trockenen Zymocaseins zurück. Es empfiehlt sich also, nach dem Vorgang *Fodors*¹⁾ den mit destilliertem Wasser häufig ausgewaschenen *feuchten* Niederschlag, der über Nacht unter Wasser stehen bleibt, in n/200 Lauge zu lösen und sofort wieder zu fällen. Die Verluste dürften dann recht gering sein. Der gereinigte Niederschlag wurde vom Filter genommen, auf einem Uhrglas in feinen Klümpchen verteilt, im Exsikkator getrocknet und zerrieben. Ausbeute = 1,75 g (gravimetrisch). *Thomas* erhielt aus 400 g Trockenhefe 9,5 g Zymocasein, *Fodor*²⁾ aus 500 g Trockenhefe 10,5 g Zymocasein. Verhältnis der Aubeuten: 1,2 (*Thomas*): 1,75. Das Verhältnis von Zerevisin zu Zymocasein wurde ermittelt von *Thomas* zu 2,4:1; von uns zu 2,85:1.

— *Thomas* will die Erscheinung, daß Albumin proportional der Alkalität in wachsender Menge auftritt, auf Hemmung der Endotryptasewirkung zurückführen. Doch erhielten wir das Albumin in relativ größerer Menge als *Thomas* (2,85:1) bei Extraktion mit Wasser an Stelle von Natriumcarbonatlösung. Auch eine andere Ansicht von *Thomas*, daß nämlich das Verhältnis der beiden Eiweißstoffe mit der Heferasse in ziemlich weiten Grenzen zu schwanken scheine, wird durch den Vergleich seiner Ergebnisse mit den unseren nicht bestätigt. Das von ihm erwähnte Anwachsen des Zymocaseins bei Anwendung größerer Hefemengen rührt wohl von den größeren Cerevisinverlusten her infolge von ausgedehnterer Endotryptasewirkung bei längerer Dauer der Operationen.

Die *Schrödersche*³⁾ Isolierungsmethode führt nach Ätherplasmolyse. Dekantieren, schwachem Ansäuern mit Essigsäure, Sieden usw. zu einem „Albumin“, das noch einen mehr oder weniger großen Teil

¹⁾ l. c.

²⁾ Fermentforsch. 4, 209, 1921.

³⁾ R. Schröder, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 389, 1902.

des Zymocaseins enthält. Um die Angaben *Kiesels*¹⁾ nachzuprüfen, arbeiteten wir nach der *Schröderschen* Methode. Es zeigte sich zwar nach dem ersten schwachen Essigsäurezusatz auf weiteren Essigsäurezusatz eine starke Trübung; wurde aber nach dem ersten schwachen Essigsäurezusatz zum Sieden erhitzt, so gab das Filtrat vom Koagulum nur schwache Reaktion mit Essigsäure. Es war also die Hauptmenge des Zymocaseins in den Niederschlag gegangen.

Kiesel hielt nun das *Schrödersche* „Albumin“ für identisch mit dem *Thomasschen* Cerevisin. Da diese Ansicht unzutreffend ist, sind es auch die darauf gegründeten Folgerungen, und die Abweichung der Analysenzahlen *Kiesels* von den *Thomasschen* erklärt sich schon daraus, daß *Kiesel* kein reines Cerevisin untersuchte — es war Zymocasein beigemengt.

2. Die Antisera.

In Fortsetzung der Arbeiten von *Obermayer* und *Pick* hat *Landsteiner*²⁾ durch Einführung verschiedener Gruppen in das Eiweißmolekül „strukturspezifische“ Antisera erhalten. Er hebt die Bedeutung der Molekulargröße und der davon abhängigen Eigenschaften der Antigene für die Bildung spezifischer Antikörper hervor. Das entspricht nur wieder dem in der Chemie zurzeit gültigen Einteilungsprinzip der Proteine.

Auf einem anderen Wege, nämlich durch Differenzierung der Eiweißkörper eines und desselben pflanzlichen Individuums, z. B. auch des gleichen Samenkorns, kamen *Wells* und *Osborne*³⁾ mit der Anaphylaxiereaktion zu übereinstimmenden Anschauungen: Die Spezifität dieser Immunreaktion gründet sich zunächst auf die chemische Konstitution des Antigens und erst in Abhängigkeit davon auf den biologischen Ursprung.

Nun sind die beiden Hefeeiweißkörper biologisch denkbar nahe verwandt, da sie in der gleichen, mikroskopisch kleinen Zelle zusammen vorkommen. Wir wollen sie deshalb als „zelleigene“ Eiweißkörper bezeichnen. Chemisch hingegen gehören sie ganz verschiedenen Klassen der Proteine an. In einem besonders glücklichen Beispiel bietet sich hier ein Prüfstein der Theorie von *Landsteiner* und von *Wells* und *Osborne*. Sie würde bestätigt, wenn die zelleigenen Hefeeiweißkörper spezifische Antikörper bilden.

¹⁾ *A. Kiesel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 118, 304, 1922.

²⁾ *K. Landsteiner*, diese Zeitschr. 104, 280, 1920; hier weitere Literaturangaben.

³⁾ Journ. inf. dis. z. B. 8, 66, 1911; 14, 264, 1914; 17, 259, 1915.

Die Arbeiten von *Wells* und *Osborne* konnten auch, weil sie mit isolierten, wohlcharakterisierten Eiweißkörpern vorgenommen wurden, über den Reinheitsgrad vegetabilischer Proteine (und Proteosen) Aufschluß geben.

Dies war nicht der Fall bei der Untersuchung der *Präzipitine gegen Pflanzeneiweiß*^{1) 2) 3)}.

Hefeeiweiß als Antigen benutzte zuerst *Schütze*⁴⁾. Nach mechanischer Zertrümmerung der Zellwände extrahierte er mit Sodalösung und injizierte das Zentrifugat der entstandenen Emulsion subkutan in Mengen bis zu insgesamt 100 ccm. Aus der Unmöglichkeit, auf diesem Wege ober- und untergärrige Getreide- und Kartoffelhefe zu unterscheiden, wurde geschlossen, daß die Eiweißkörper verschiedener Heferasen sich sehr nahe stehen.

W. Magnus und *K. Friedenthal*⁵⁾ immunisierten mit schwach alkalisierten Buchnerpreßsäften von Hefe, Trüffel und Champignon. Die Reaktionen sprachen für nähere Verwandtschaft von Hefe mit Trüffel als mit Champignon. *M. Nicolle* und *E. Césaire*⁶⁾, ferner *Warden*⁷⁾ erhielten nach Vorbehandlung mit Hefezellen Präzipitine für Hefeextrakt.

Wir gewannen die Immunsere in der Regel durch dreimalige intravenöse *Injektion* von je 5 ccm der *neutralen Eiweißlösungen* in Abständen von 6 Tagen (Tabelle I).

Entweder sofort oder nach Umfällung mit Ammonsulfat und abermaliger Dialyse wurde die Cerevisinlösung filtriert, mit Kochsalz bis zu einem Gehalt von 0,85 Proz. versetzt, das Chloroform bei 36° vertrieben und die Antigenlösung warm injiziert.

Die aus dem umgefällten Zymocasein mit n/10 NaOH erhaltene Lösung wurde mit n/10 und n/50 HCl gegen Azolitminpapier neutralisiert. Vom Niederschlag wurde abfiltriert, das neutrale Filtrat auf etwa physiologische

¹⁾ Die ältere Literatur ist zusammengestellt in *P. Uhlenhuth* und *O. Weidanz*, Prakt. Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. Jena, Fischer, 1909.

²⁾ *J. Becker*, zitiert nach Zentralbl. f. Biochem. u. Biophys. **20**, 172, 1919; *M. Popoff* und *S. Konsuloff*, ebendasselbst **19**, 216, 1917–1919.

³⁾ Die neuere Literatur findet sich teilweise bei *H. Dold* in *E. Abderhalden*, Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abtl. XIII; Methoden der Immunforsch., Teil II, Heft 1, Lief. 19, S. 97, und zwar S. 103, 110, 112, 116, 118, 152; über *Pilzeiweiß* sind ebendasselbst zitiert die Arbeiten von *Wendelstadt* und *Fellmer* und von *Thöny* und *Thaysen*; auch sind ebendasselbst eingehend berücksichtigt die Untersuchungen über *Bakterieneiweiß*; von älteren Untersuchungen vgl. hierzu *R. Kraus*, *Fornet* und Mitarbeiter. *L. Michaelis* u. a.; ferner *Cleveland Floyd*, Journ. of Immunology **5**, 231, 1920.

⁴⁾ Deutsch. med. Wochenschr. **28**, 804, 1902.

⁵⁾ Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch. **24**, 600, 1907.

⁶⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur **84**, 709, 1920.

⁷⁾ Zitiert nach Chem. Centralbl. **94**, I. S. 108, 1923.

Kochsalzkonzentration gebracht und warm injiziert. Analog verläuft die Bereitung neutraler Caseinlösungen¹⁾.

N- und P-Bestimmungen in den verschiedenen Zymocaseinfractionen²⁾ ergaben innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmende Werte. Die verschiedenen Fraktionen werden deshalb als chemisch „kaum“ unterscheidbar bezeichnet. Es scheint zu genügen, mit einer einzigen, z. B. der neutralen, zu immunisieren.

Vor Blutentnahmen hungerten die Tiere (Kaninchen) 12 Stunden lang. Die *Antisera* wurden ohne Filtration oder Zusätze in Glasröhren eingeschmolzen aufbewahrt. Spärliche, manchmal beim Stehen in der Kälte entstandene Niederschläge wurden abzentrifugiert.

Die *Reaktion* wurde geprüft durch Unterschichten von 1 ccm Prüfungsantigen (A.) mit 0,1 ccm Immunserum (I. S.). Wo nichts anderes vermerkt ist, wurde die Reaktionsstärke 20 Minuten nach Ansetzen der Reaktion abgelesen. Die Röhrchen standen bei Zimmertemperatur. Ablesungen an verschiedenen Tagen sind, wie die relativen Reaktionsgrade zeigen, nicht ganz konstant, wohl hauptsächlich wegen des subjektiven Ablesungsfehlers. Als Kontrolle (K.) dienten 1 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung + 0,1 ccm I. S.

Die Ergebnisse der gekreuzten Immunisierung mit Cerevisin und Zymocasein bringt Tabelle I.

Tabelle I.

Immunserum Nr.	1	2	3	4	5	6
gewonnen durch intravenöse Injektion von je 5 ccm einer Lösung von						
Art der Immunisierung	Cerevisin 1 : 400 am 7. IV., 13. IV., 19. IV., 2. V.	Cerevisin wie bei Nr. 1	Zymocasein 1 : 1000 am 15. III., 21. III., 27. III.	Zymocasein wie bei Nr. 3	Zymocasein 1 : 1000 am 16. VI., 22. VI., 28. VI.	Zymocasein wie bei Nr. 5
			Cerevisin 1 : 250 am 18. V., 5. VI.	Cerevisin 1 : 250 am 18. V., 3. VI., 12. VI.		
Datum der Reaktion	12. V.	12. V.	13. VI.	10. VI., 27. VI.	6. VII.	6. VII.
Beobachtungsdauer					40'	40'
Cerevisinlösung	1 : 500	++	+			
	1 : 1 000	+	+			
	1 : 2 000	+	±			
	1 : 4 000	?	?			
	1 : 8 000		+			
	1 : 16 000		0			
Zymocaseinlösung	1 : 1 000	0	++	0	++	++
	1 : 2 000		+	?	++	+
	1 : 4 000		+	0	±	±
	1 : 8 000		+		0	±
Ovalbuminlösung	0	0	0			
Kontrolle (K) . . .	0	0	0	0 0	0	0

¹⁾ K. Landsteiner, l. c. — ²⁾ A. Fodor, Fermentforsch. 6, 238, 1922.

Bei Nr. 1 und 2 liegen gegen Cerevisin spezifische, schwache Immunsera vor: Die deutliche Reaktion mit dem Antigen der Vorbehandlung ging nur bis zu einer Verdünnung von 1:2000. Mit der doppelten Konzentration eines biologisch (Zymocasein; geprüft bei Nr. 1) oder chemisch (Ovalbumin) verwandten Proteins trat keine Reaktion ein. Der Titer der Cerevisinantiseren blieb niedrig, weil mit geringen Antigenmengen immunisiert war, ferner, weil junge, empfindliche Tiere, an denen Überempfindlichkeitsercheinungen auftraten, nicht verwendet wurden und weil die Ernährung der Tiere, deren Gewicht ständig kontrolliert wurde, wegen Hafermangels zu wünschen übrig ließ. Schließlich ist die Antikörper bildende Kraft der Albumine relativ gering, und zwar um so geringer, je reiner sie sind.

An Nr. 3 ist zu erkennen, daß die Reaktion gegen Zymocasein noch stark sein kann 2½ Monate nach der letzten Injektion, trotz nachfolgender Behandlung mit Cerevisin; an Nr. 4, daß auch das gegenteilige Verhalten vorkommt und daß dann durch weitere Injektion von Cerevisin die Reaktion gegen Zymocasein zum Verschwinden gebracht werden kann. Das Abklingen der im lebenden Organismus vorhandenen Antikörpermengen mit der Zeit scheint durch die Injektion eines zweiten Eiweißkörpers hier nicht beeinflußt zu werden. Dies steht im Einklang mit Beobachtungen von v. Dungern¹⁾, der bei Ablösung des ersten Immunisierungsantigens durch ein zweites keine Neuproduktion von Antikörpern gegen das erste auftreten sah. Bei anfänglicher Immunisierung mit beiden Antigenen zusammen hingegen und Fortsetzung mit dem einen davon wurden Antikörper gegen beide Antigene neu gebildet. Wir sehen hierin, ebenso wie in der Schwäche der Cerevisinantiseren einen Hinweis darauf, daß die Trennung unserer beiden Antigene vollkommen genug war.

Nach 1½ monatiger Aufbewahrung von Nr. 3 und Abzentrifugieren einer entstandenen Trübung waren Spezifität und Reaktionsstärke geringer geworden, was nach Beobachtungen anderer Autoren zu erwarten war. Mit einem in üblicher Weise durch dreimalige Antigeninjektion hergestellten Ovalbuminantiserum (Nr. 7) wurde die Spezifitätsprüfung vorgenommen. Die Einzelheiten enthält Tabelle II.

Tabelle II.

	Ovalbumin		Cerevisin		K.	Zeit
	1:1000	1:2000	1:1000	1:2000		
I. S. Nr. 3 . .	±	?	±	?	θ	20'
	±	?	+	±	θ	2b
I. S. Nr. 7 . .	+++	++	?	?	θ	20'
	+++	+++	?	?	θ	2b

¹⁾ Zeitschr. f. Immunforsch., H. 1/5, S. 326, (März 1914).

Bei Nr. 3 kommt deutliche Spezifität erst nach 2 Stunden zum Ausdruck; aber auch Nr. 7 reagiert nicht vollkommen spezifisch, sondern auch mit einem chemisch verwandten Eiweißkörper, wiewohl ganz schwach.

Die Immunisierung gegen Zymocasein allein lieferte im Falle von Nr. 5 (Tabelle I) ein nicht streng spezifisches Serum, das mit Cerevisin in geringem Grade noch reagierte; dagegen im Falle von Nr. 6 bei gleicher Vorbehandlung ein unter den gewählten Versuchsbedingungen völlig spezifisches.

Bei längerer Beobachtung der Reaktionen von Nr. 5 und 6 mit Cerevisin und Zymocasein war mehrfach Abnahme der Reaktionsstärke der Zymocaseinröhrchen festzustellen. Die gleiche Erscheinung ist *P. Th. Müller*¹⁾ beim Lactopräzipitat aufgefallen, das sich im Überschuß des Caseinantigens, aus dem es hauptsächlich bestehen soll, allmählich auflöse. Der Präzipitationsmechanismus verschiedener Phosphorproteide scheint also ähnlich zu sein²⁾. Schlüsse auf Reinheit der Antigene und Spezifität der Reaktion aus späten Ablesungen sind vorerst unsicher.

Da Nr. 5 am 6. Juli nicht streng spezifisch reagierte, wurde auch das Verhalten gegen wässrigen Hefeextrakt (W. H.), der viel Albumin und wenig Phosphorprotein enthält³⁾, und gegen Casein untersucht, wie zu erkennen ist aus Tabelle III.

Tabelle III (I. S. Nr. 5).

	Cerevisin 1 : 300	Casein 1 : 300	W. H.	Zymocasein 1 : 1000	K.	W. H. ohne I. S.	Zeit
Reaktion am 20. VII.	θ	±	±	+ ±	θ	θ	20'

Die Cerevisinlösung war hier stärker als am 6. Juli, die Beobachtungsdauer nur halb so groß. Vielleicht erklärt sich die Unstimmigkeit — hier negative, dort schwach positive Reaktion — aus Verunreinigung des Prüfungsantigens oder aus Ablesungsfehler am 6. Juli. Immerhin ist bemerkenswert, daß beim unmittelbaren Vergleich das chemisch verwandte Casein weit stärker reagiert als das biologisch verwandte Cerevisin. W. H. ohne I. S. dienten als Kontrolle, um unspezifische Trübung im W. H. beim Stehen auszuschließen. Ein genaueres Bild der Reaktion von Nr. 5 mit Casein gibt Tabelle IV.

¹⁾ Arch. f. Hygiene 44, 126, 1902; Zentralbl. f. Bakt. 32, 521, 1902; 34, 48, 1903.

²⁾ Über den Präzipitationsmechanismus speziell des Ovalbumins vgl. *F. Ottensooser*, Kolloid-Zeitschr. 33, 176, 1923; Beiträge zur Präzipitinreaktion, II. Teil, I.-D. München 1924.

³⁾ Die Bereitung ist im nächsten Abschnitt beschrieben.

Tabelle IV (I. S. Nr. 5).

	Casein			Zymocasein				K.
	1:250	1:500	1:1000	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	
Reaktion am 21. VII. . .	?	θ	θ	++	+	±	?	θ

Das Verhältnis der Trübungsgrade von Casein 1:300 zu Zymocasein 1:1000 ist nicht ganz das gleiche, wie das von Casein 1:250 zu Zymocasein 1:1000 bei Ablesung am nächsten Tage. Casein 1:250 müßte sogar etwas stärker reagieren als 1:300. Offenbar liegt hier ein Ablesungsfehler bei der einzigen, am 20. Juli geprüften Verdünnung vor. Jedenfalls ergibt sich eine weitgehende, aber keine völlige Spezifität von Nr. 5 gegenüber dem homologen Antigen, verglichen mit einem chemisch verwandten Eiweißkörper, einem Phosphorprotein. Die Spezifität ist höher als bei Nr. 3 und 4 gegen das jeweilige Albumin-antigen, doch die weitgehende chemische Verwandtschaft zwischen Zymocasein und Casein ist auch serologisch zu bestätigen. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der gekreuzten Präzipitinreaktion gegen *Cerevisin* (Nr. 1 vom 12. Mai, Nr. 4 vom 27. Juni) und gegen Zymocasein (Nr. 6) Spezifität in Erscheinung trat.

Die häufige Nachweisbarkeit biologischer Verwandtschaften mit Hilfe der Präzipitinreaktion beruht auf chemischer Ähnlichkeit der Antigene. Nach Wells und Osborne können in einer Pflanze enthaltene Eiweißkörper von abweichendem chemischen Bau serologisch sich verwandt erweisen. Hier haben wir jedoch an den Eiweißkörpern der Hefe das gegenteilige Verhalten aufgezeigt, wofür es unter den tierischen zahlreiche Analogien gibt, z. B. die Differenzierung der Hühnerei- oder der Serumproteine¹⁾. Daß der gewöhnlich im biologischen Sinne gebrauchte Begriff der Verwandtschaftsreaktion auf die chemische Ähnlichkeit der Antigene bezogen werden muß, geht auch aus der negativen Reaktion von Augenlinseneiweiß und Kaviareiweiß mit dem betreffenden Körpereweiß hervor. Mit verwandten Eiweißkörpern reagierende Präzipitine nehmen eine Mittelstellung ein zwischen den streng spezifischen und den heterogenetischen²⁾. Die schon oft beobachtete Verschiebbarkeit der Präzipitinreaktionsbreite findet ihre Analogie in den Nebenreaktionen von Fermenten³⁾, die auf das spezifische Substrat relativ stark und zugleich auf ein anderes schwächer wirken.

¹⁾ R. Doerr und W. Berger, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 96, 191.

²⁾ E. Friedberger und A. Collier, H. Reeser u. a.; z. B. Zeitschr. f. Immunforsch. 28, H. 3/5, April 1919; 34, I, S. 357—363.

³⁾ R. Willstätter und R. Kuhn, Zeitschr. f. physiol. Chem. 125, 28, 1923; 127, 234, 1923.

8. Nachweis von Hefeeiweiß in vergorenen Flüssigkeiten.

*Iwanoff*¹⁾ beobachtete, daß bei der Gärung in der Hefezelle Eiweißspaltung eintritt und an das umgebende Medium ein großer Teil des ursprünglich in der Zelle vorhandenen Stickstoffs abgegeben wird. *Lampits*²⁾ Untersuchungen sprechen in gleichem Sinne. Es könnte also bei der Gärung auch unverändertes Hefeeiweiß in Lösung gegangen sein. Diese Vermutung wird noch bestärkt durch die Tatsache, daß sich in Bier, dessen Würze vor Hefezusatz sorgfältig zur Entfernung vorhandener Eiweißstoffe gekocht war, nach der Gärung immer wieder koagulierbares Eiweiß vorfindet.

Die chemischen Methoden genügen nicht zur Aufklärung der Pasteurisiertübung des Bieres, da, um nur 1 g davon, entsprechend etwa 0,4 g Eiweiß zu gewinnen, 100 Liter Bier zu verarbeiten sind. Aber auch der Anwendung der Präzipitinreaktion stehen große Schwierigkeiten entgegen. Vor allem wird die unspezifische Trübung, die vergorene Flüssigkeiten auch mit Normalseren und unspezifischen Antisera geben, durch Neutralisieren nur teilweise aufgehoben. Sie verschwindet selbst dann nicht, wenn man außerdem von Kohlensäure befreit und die Eiweißkörper beseitigt durch Einkochen aufs halbe Volumen, Filtrieren und Auffüllen mit destilliertem Wasser aufs ursprüngliche Volumen. Mit Kochsalzlösung darf nicht aufgefüllt werden, weil die anfängliche Salzkonzentration erhöht und Lösung der Globuline selbst einer spezifischen Fällung eintreten würde. Verschiedene Biersorten wurden zudem im Vakuum eingeengt, wobei die Gefahr der Eiweißdenaturierung besteht und mit neutralisierter Trubsackwürze verglichen. Die unspezifischen Trübungen suchten wir daran zu erkennen, daß die Cerevisinantisera mit einem Ovalbuminantiserum kontrolliert wurden. Wir nahmen an, daß dieses auf unspezifische Fällungsbedingungen in ähnlicher Weise reagieren würde, und daß sich die spezifische Reaktion im Cerevisinantiserum überlagern und in verstärkter Trübung bemerkbar machen würde.

Da aber die Cerevisinantisera schwach waren, so mußten es auch die Unterschiede der Trübungsgrade sein: Sie waren zu gering, um zum exakten Nachweis auszureichen, boten jedoch Anhaltspunkte für Anwesenheit von Cerevisin bei Benutzung von *Kossowicz*scher³⁾ Nährlösung und vergorener Traubenzuckerlösung. Dagegen zeigte sich, daß in dieser und in einer Biersorte Zymocasein entweder gar nicht

¹⁾ Diese Zeitschr. 120, 25, 1921.

²⁾ Zitiert bei *H. Lüers* und *M. Landauer*, Zeitschr. f. ges. Brauwesen 45, 159—62, 15. November, 164—68, 1. Dezember 1922; Chem. Zentralbl. 94, II, 344, 1923.

³⁾ Mykologie der Gebrauchs- und Abwässer, S. 187, Berlin 1913.

oder in so geringen Mengen vorkommt, daß es selbst für den vorliegenden Zweck vernachlässigt werden kann¹⁾. Gerade bei der Pasteurisierung ist aber der Nachweis von Hefeiweiß praktisch wichtig; denn um das deutsche Exportbier konkurrenzfähiger zu machen, muß die Pasteurisierung untersucht und verhindert werden²⁾.

Nach dem Versagen der Präzipitinreaktion stand von den biologischen Methoden noch die weniger streng spezifische, aber ungleich empfindlichere Anaphylaxiereaktion zu Gebote.

Hier wieder sind die sichersten Ergebnisse mit der *Pfeifferschen*³⁾ Maßmethode des anaphylaktischen Shocks zu erhalten. Über die Zuverlässigkeit der Methode unterrichtet z. B. eine Tabelle bei *Pfeiffer*⁴⁾: die einzelnen Tiere verhalten sich zuweilen verschieden. Es kommen völlig und selbst bei dem günstigsten Intervall teilweise refraktäre Fälle vor. Deshalb ist der Mittelwert aus mehreren Versuchen zu benutzen.

„Shockgröße“ heißt das halbe Produkt aus Zeit in Minuten bis zur Wiederkehr der Ausgangstemperatur multipliziert mit der stärksten Temperaturemniedrigung in Graden multipliziert mit 10; also (Minuten $\times$ Temperaturemniedrigung $\times$ 10):2.

Dieser Ausdruck findet sich in den Tabellen unter Shock; die Spalte Temperaturabnahme enthält die wirkliche Temperaturabnahme multipliziert mit 10.

Wässriger Hefeextrakt („W. H.“),

der mehrfach zur Sensibilisierung diente, wurde in folgender Weise hergestellt:

Ein Gewichtsteil Trockenhefe + 3 Gewichtsteile destillierten Wassers + 7 Gewichtsteile physiologischer Kochsalzlösung blieben in steriler Petrischale 7 Stunden bei 35°. Hierauf wurde entweder gelinde mit Chloroform geschüttelt, das bei Erwärmen auf 36° ohnehin vertrieben wird, oder es wurde durch Tonkerzen filtriert, steril umgefüllt und erwärmt. Der Eiweißgehalt der so injizierten Lösung betrug etwa 1 Proz.

Die mit dem wässrigen Hefeextrakt vorbehandelten Tiere wurden reinjiziert mit den auf Hefeiweiß zu prüfenden Flüssigkeiten. Bei Vorhandensein mußten Shock bzw. Temperaturemniedrigung auftreten. Ferner wurden Sensibilisierungs- und Reinjektionsflüssigkeit vertauscht, d. h. die zu untersuchende Flüssigkeit zur Sensibilisierung.

¹⁾ Näheres findet sich bei *F. Ottensooser*, l. c.

²⁾ *H. Lüers*, l. c.

³⁾ *H. Pfeiffer*, Das Problem der Eiweißanaphylaxie. Jena, Gustav Fischer, 1910.

⁴⁾ Die Arbeitsmethoden bei Versuchen über Anaphylaxie in *Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden*, Abtl. XIII, Methoden der Immunforsch., Teil II, H. 1, Lief. 19, S. 81.

Hefeextrakt zur Reinjektion verwendet. Daß Hefeextraktinjektion allein ohne Reinjektion keine anaphylaktischen Erscheinungen erzeugt, geht aus Tabelle V hervor.

Tabelle V.

Prüfung auf Temperaturabnahme nach Injektion von 2,0 ccm wässrigen Hefeextrakts (W. H.) allein.

Meer- schweinchen Nr.	Injektion von W.H. intra-peritoneal ccm	Temperatur- abnahme	Zeit	Shock	Mittel
1	2,0	14	95	665	367
2	2,0	8	17,5	70	

Die Shockgrößen sind relativ sehr gering. Mithin enthält wässriger Hefeextrakt nicht in genügender Menge Stoffe, die anaphylaktischen Shock vortäuschen könnten, etwa Peptone.

Wie reagiert nun ein so mit W. H. vorbehandeltes Tier auf Reinjektion einer Hefeeiweißlösung (0,5proz. Hefealbuminlösung) nach kurzem Intervall (12 Tagen)? Tabelle VI gibt die Antwort:

Tabelle VI.

Shockwirkung der Reinjektion von 0,6 ccm einer 0,5proz. Cerevisinlösung auf ein mit 1,0 ccm wässrigen Hefeextrakts (W. H.) vorbehandeltes und auf ein unvorbehandeltes Tier.

Meer- schweinchen Nr.	Vorbehandlung W.H. ccm	Intervall Tage	Reinjektion, Cerevisinlösung 0,5 Proz. intrav. ccm	Tem- peratur- ab- nahme	Zeit	Shock	Mittel
3	1,0	12	0,6	41	133	2726	2726
4	—	—	0,6	32	50	800	800

Die Cerevisinlösung war die gleiche, wie sie für die Präzipitinreaktion verwendet worden war. Das Hefealbumin erzeugt bei dem mit wässrigem Hefeextrakt sensibilisierten Tiere (3) im Gegensatz zum Kontrolltiere (4) starken Shock. Hefealbumin hat also anaphylaktogene Eigenschaften. Die gleichzeitige Sensibilisierung mit sehr geringen Zymocaseinmengen hat keine ausgesprochene Hemmung zur Folge. Nach *Lewis*¹⁾ vermögen nämlich heterologe Proteine, die dem homologen Protein der Sensibilisierungsflüssigkeit im Überschuß zugesetzt werden, die Anaphylaxiereaktion zu hemmen („Konkurrenz der Antigene“).

Nach diesen Vorversuchen wurde nun zur Untersuchung vergorener Lösungen übergegangen. Die vergorene Zuckperlösung war folgendermaßen bereitet:

¹⁾ Journ. inf. dis. 17, 241, 1915; Doerr und Berger, diese Zeitschr. 181, 13, 1922.

25 g Rohrzucker werden in 250 ccm Brunnenwasser gelöst. Nach Aufkochen und Erkalten der 10proz. Zuckerlösung werden 10 g gut abgepreßte Bierhefe ausgesät, indem zerkleinert eingegeben und umgeschüttelt wird. Das Ganze wird in einem 500-ccm-Stehkolben 2 Tage bei 25° unter Watterverschluss nach Zusatz von 2 g Asparagin der Gärung überlassen. Nach Ablauf der Frist wird durch GurfILTER blank filtriert und im Vakuum bei 40° auf ganz geringes Volumen eingengt (einige Kubikzentimeter). Beim Abkühlen schied sich das unverbrauchte Asparagin aus, die überstehende bräunliche, dickliche, etwas trübe Flüssigkeit wird mikroskopisch auf Hefe-freiheit geprüft und mit 2 n Natriumcarbonatlösung eine Spur alkalisch gemacht. Nach Versetzen mit reinem festen Kochsalz bis zum Gesamtgehalt der Lösung von 0,85 Proz. und Zugabe von Chloroform wird in halb-offener Petrischale eine halbe Stunde bei 36° belassen und injiziert.

Wie die mit W. H. sensibilisierten Tiere auf Reinjektion der vergorenen Zuckerlösung reagierten, ist aus Tabelle VII zu ersehen.

Tabelle VII.

Wirkung der kombinierten intravenösen (0,6 ccm) und intraperitonealen (1,0 ccm) Reinjektion von vergorener Zuckerlösung auf zwei mit 1,0 ccm wässrigen Hefeextraktes (W. H.) vorbehandelte Tiere verglichen mit einem unvorbehandelten Kontrolltier.

Meer- schweinchen Nr.	Vorbehandlung W. H. ccm	Intervall Tage	Reinjektion vergorener Zuckerlösung ccm	Tem- peratur- ab- nahme	Zeit	Shock	Mittel
5	1,0	14	Intrav. 0,6	33	195	3217	2276
6	1,0	14	Intraper. 1,0	17	157	1335	
7	—	—	„	23	84	966	

Das Kontrolltier hat den geringsten Shock. Dies spricht dafür, daß in der vergorenen Zuckerlösung Hefe-eiweiß zugegen ist; wohl hauptsächlich Albumin, da die Sensibilisierungsflüssigkeit nur wenig Zymocasein enthielt. Intravenöse und intraperitoneale Injektion wurden kombiniert, um bei Anwendung geringer Injektionsmengen hohen Shock zu erzielen. Die Kontrolltiere zeigen bei so eingreifenden Maßnahmen ebenfalls höhere Temperaturabnahmen, die sich aber von denen der vorbehandelten Tiere deutlich genug unterscheiden.

Um die *Pasteurisirtrübung* injizieren zu können, wurde das pasteurisierte Bier vom Bodensatz abdekantiert, die trübe Aufschlammung zentrifugiert, abgegossen, der Rückstand mit viel Wasser aufgerührt und bei 2750 Touren 5 Minuten lang zentrifugiert. Nach abermaligem Dekantieren wurde wenig Wasser (3 bis 5 ccm pro Behälter, deren jeder einer Flasche pasteurisierten Bieres entsprach) zugegeben, mit einigen Tropfen 2 n Natriumcarbonatlösung das Eiweiß in Lösung gebracht, sofort gurfiltrierte und das klare Filtrat mit n HCl tropfenweise versetzt bis die Reaktion gegen Azolitminpapier eben noch schwach alkalisch war.

Drei Flaschen pasteurisierten Biers lieferten so etwa 5 ccm Endvolum, entsprechend etwa 15 mg Eiweiß. Versetzen mit Kochsalzlösung usw.

geschah wie bei der vergorenen Zuckerlösung. Durch die Behandlung mit Na_2CO_3 können die antigenen Eigenschaften nach *Schmidt*¹⁾ nicht beeinträchtigt sein.

Tabelle VIII gibt ein Bild von der Wirkung der Reinjektion der gelösten Pasteurisierrübung auf die mit W. H. vorbehandelten Tiere.

Tabelle VIII.

Wirkung der kombinierten intravenösen (0,6 ccm) und intraperitonealen (1,0 ccm) Reinjektion von gelöster Pasteurisierrübung auf ein mit 1,0 ccm wässerigen Hefeextrakts vorbehandeltes Tier, verglichen mit unvorbehandeltem Kontrolltier.

Meer- schweinchen Nr.	Vorbehandlung W. H. ccm	Intervall Tage	Reinjektion, Pasteurisierrübung ccm	Tem- peratur- ab- nahme	Zeit	Shock	Mittel
8	1,0	14	Intrav. 0,6	32	205	3280	3280
9	—	—	Intraper. 1,0	12	55	330	330

Die reinjizierte Pasteurisierrübung rief beim vorbehandelten Tiere einen viel stärkeren Shock hervor als beim Kontrolltiere.

Die folgenden Tabellen geben Versuche wieder, bei denen umgekehrt die auf Anwesenheit von Hefeeiweiß zu untersuchenden Lösungen zur Sensibilisierung verwendet worden waren. Da hier mit geringen Eiweißmengen vorbehandelt wurde, sind weniger deutliche Ausschläge zu erwarten als bei Tabellen VII und VIII.

Tabelle IX enthält die Versuche mit Pasteurisierrübung als Sensibilisierungs- und mit wässerigem Hefeextrakt als Reinjektionsflüssigkeit.

Tabelle IX.

Wirkung der intraperitonealen Reinjektion von 2,0 ccm wässerigen Hefeextrakts (W. H.) auf zwei mit 1,0 ccm gelöster Pasteurisierrübung vorbehandelte Tiere, verglichen mit den beiden Kontrolltieren der Tabelle V.

Meer- schweinchen Nr.	Vorbehandlung, Pasteurisierrübung ccm	Intervall Tage	Reinjektion W. H. ccm	Tem- peratur- ab- nahme	Zeit	Shock	Mittel
10	1	21	intraper. 2	6	64	192	1671
11	1	21	„ 2	18	350*	3150	

* 7½ Stunden.

Im Mittel wiesen die vorbehandelten Meerschweinchen (10 und 11) viel stärkeren Schock auf als die Kontrollen (Meerschweinchen 1 und 2, Tabelle V). Der negative Ausfall bei Meerschweinchen 10 kann dadurch

¹⁾ W. A. Schmidt, zitiert nach Zentralbl. f. Biochem. u. Biophys. 1910, Nr. 411.

verursacht sein, daß die Sensibilisierungsdosis zu klein war. Die oben erwähnten refraktären Fälle sind als Folge geringer Sensibilisierungsdosis auch bei anderen Autoren etwa von gleicher Häufigkeit.

Im Zusammenhalt mit Tabelle VIII ist Hefeeiweiß in der Pasteurisierung nachgewiesen. Gersteneiweiß, das, wie unten (Tabelle XI) gezeigt wird, in der Pasteurisierung in größerer Menge zugegen ist als Hefeeiweiß, hat wenigstens bei Meerschweinchen 11 keine ausgesprochene Hemmung hervorgerufen.

In Tabelle X sind die Versuche mit vergorener Zuckerlösung als Sensibilisierungs- und mit wässrigem Hefeextrakt als Reinjektionsflüssigkeit zusammengestellt.

Tabelle X.

Wirkung der intraperitonealen Wirkung der Reinjektion von 2,0 ccm wässrigem Hefeextrakts (W. H.) auf zwei mit 1,0 ccm vergorener Zuckerlösung vorbehandelte Tiere, verglichen mit den beiden Kontrolltieren der Tabelle V.

Meerschweinchen Nr.	Vorbehandlung konz. vergorene Zuckerlösung ccm	Intervall Tage	Reinjektion W.H. intraperitoneal ccm	Temperatur- abnahme	Zeit	Shock	Mittel
12	1	21	2,0	13	51	532	473
13	1	21	2,0	7	175	613	

Hier ist das Mittel der Shockgrößen zwar etwas höher als bei den Kontrolltieren (Meerschweinchen 1 und 2), doch ist die Differenz (Tabelle VII Mittel 473, Tabelle V Mittel 367) zu gering, um beweisend zu sein. Wie schon oben bemerkt, ist offenbar die *Sensibilisierungsdosis zu klein*, was hier noch mehr ins Gewicht fällt als bei der Pasteurisierung. Daß die Hefeeiweißkörper der Sensibilisierungsflüssigkeit in Mengenverhältnissen vorliegen, die sich gegenseitig hemmen, ist kaum anzunehmen. Immerhin wird nach Tabelle VII und nach den Ergebnissen der Präzipitinreaktion die *Anwesenheit von Hefeeiweiß in der vergorenen Zuckerlösung* trotz des nicht beweisenden Ausfalls bei Meerschweinchen 12 und 13 *sehr wahrscheinlich*, da auch die Möglichkeit besteht, daß zufällig Meerschweinchen 12 und 13 weniger empfindlich waren.

Enthielte die Pasteurisierung nur aus der Hefe stammende Eiweißkörper, so müßten die Tiere, die einen Shock durchgemacht hatten, antianaphylaktisch geworden sein, d. h. unempfindlich gegen neuerliche Reinjektion des Antigens. Wie aus Tabelle XI hervorgeht, war dies nicht der Fall: Tier 8 erhielt z. B. wässrigen Hefeextrakt, nach 14 Tagen Pasteurisierung, wobei starker Shock auftrat (s. Tabelle VIII), und nach weiteren 9 Tagen abermals Pasteurisierung. Es hatte bei der zweiten Reinjektion, also bei der dritten

Injektion, starken Shock, wie *Tier 9*, das nur einmal mit Pasteurisierrührung vorbehandelt war und nach 9 Tagen wieder Pasteurisierrührung erhielt. Tier 11 war umgekehrt vorbehandelt wie Tier 8, nämlich mit Pasteurisierrührung und nach 21 Tagen mit wässerigem Hefeextrakt. Es machte bei der Reinjektion, also bei der zweiten Injektion, einen schweren Shock durch, der sich auf abermalige Injektion von Pasteurisierrührung am nächsten Tage noch steigerte. Tabelle XI gibt die Einzelheiten wieder.

Tabelle XI.

Prüfung auf Antianaphylaxie gegen Hefeeiweiß bei Tieren, die schon einen Shock durchgemacht hatten und auf das Vorhandensein eines Nichthefe-eiweißkörpers in der Pasteurisierrührung.

Meerschweinchen Nr.	Vorbehandlung	Intervall ¹⁾ Tage	Reinjektion, Pasteurisierrührung ccm	Temperatur- abnahme	Zeit	Shock
8	1. W. H. 2. Nach 14 Tage Pasteurisierrührung s. o.	9 (bzw. 22)	3. intraper. 3,5	17	etwa 270	etwa 2800
9	1. Pasteurisierrührung s. o.	9	2. intraper. 3,5	17	etwa 363	etwa 3000
11	1. Pasteurisierrührung 2. Nach 21 Tage W. H., s. o.	1 (bzw. 23)	3. intraper. 3,5	27	>250	>3375

Tier 9 zeigte nach 9 Tagen starke Anaphylaxie gegen Pasteurisierrührung; Kontrolltiere, mit wässerigem Hefeextrakt vorbehandelt (in den Tabellen nicht aufgeführt), zeigten nach 9 Tagen noch keine Anaphylaxie gegen Hefeeiweiß, sowohl bei wässerigem Hefeextrakt, wie bei Pasteurisierrührung als Reinjektionsflüssigkeit. Dies beweist erstens, daß die Pasteurisierrührung einen oder mehrere Eiweißstoffe enthält, die nicht der Hefe entstammen, zweitens daß diese stärker anaphylaktogen wirken als die Hefeeiweißstoffe, also höchstwahrscheinlich an Menge überwiegen (s. unten). Nach der Herkunft des Materials und den ausgeführten Analysen (Leukosin, Lüers, l. c.) kann es sich nur um Gersteiweiß handeln. *Tier 9 ist also gegen Gersteiweiß anaphylaktisch.* Die Anaphylaxie gegen Hefeeiweiß superponiert sich vermutlich noch nicht, weil sie infolge der Kürze des Intervalls bei der Geringfügigkeit der einverleibten Mengen noch nicht voll ausgebildet sein wird. Andererseits liegt aus dem gleichen Grunde, nämlich weil das konkurrierende Antigen an Menge in den Hintergrund tritt, keine Hemmung der Gersteiweißanaphylaxie vor.

Meerschweinchen 8 war bei der Reinjektion antianaphylaktisch gegen Hefeeiweiß, was aber durch die starke Anaphylaxie gegen Gerste-

¹⁾ Das Intervall ist vom Tage der zweiten Injektion an gerechnet; die Zahlen in Klammern bedeuten das Intervall, bezogen auf die erste Injektion.

eiweiß verdeckt ist. Hemmung ist abermals nicht in Erscheinung getreten.

Für Meerschweinchen 11 gilt das gleiche wie für Meerschweinchen 8: Auch hier bestand Antianaphylaxie gegen Hefeeiweiß, nur war hier das günstigste Intervall für die Anaphylaxie gegen Gersteiweiß gewählt. Dem entspricht der schwerste Shock, auch den Erscheinungen nach, der im Laufe der Versuche zur Beobachtung kam. Hierin liegt eine weitere Bestätigung dafür, daß bei der Anwendung von Pasteurisirtrübung als Sensibilisierungs- und Reinjektionsstoff ein stärkeres oder vorwiegendes Anaphylaktogen mit im Spiele ist, gegenüber den früher beschriebenen Versuchen mit Hefeeiweiß. Daß Gersteiweiß seiner Natur nach stärker anaphylaktogen sei als Hefeeiweiß, dafür liegt nicht der geringste Anhaltspunkt vor. Es wird also reichlicher zugegen sein.

Da die Reinjektion nach Intervall, Art und Dosis bei verschiedenen behandelten Tieren nicht immer in gleicher Weise erfolgte, sind weitere Schlußfolgerungen über die relativen Eiweißmengen in den Injektionsflüssigkeiten unsicher.

Herrn Geheimrat Prof. Dr. v. Gruber, mit dessen Erlaubnis der serologische Teil der Arbeit im hygienischen Institut der Universität München ausgeführt wurde, sprechen wir für sein Entgegenkommen unseren besten Dank aus.

Zusammenfassung.

1. Bei Berücksichtigung der optimalen Wasserstoffzahl waren aus Trockenhefe 10 Proz. Cerevisin und 3 Proz. Zymocasein zu erhalten.

2. Diese zelleigenen Eiweißkörper waren mit der gekreuzten Präzipitinreaktion zu differenzieren — eine weitere Stütze der Auffassung, daß die Spezifität primär durch die chemische Natur und erst in Abhängigkeit davon durch die biologische Herkunft der Antigene bedingt ist.

3. Die Anwesenheit von Hefeeiweiß in vergorenen Flüssigkeiten ist sehr wahrscheinlich; die Pasteurisirtrübung des Bieres enthält Hefeeiweiß und in vorwiegender Menge Gersteiweiß, wie durch Anaphylaxieversuche nachgewiesen werden konnte.

Eine titrimetrische Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.

Von

C. Risch, Bärwalde (Neumark).

(Eingegangen am 29. März 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Umständlichkeit der jedesmaligen Herstellung der bekannten Puffergemische aus ihnen getrennt und unter CO_2 -Ausschluß zu haltenden Lösungen, besonders die Schwierigkeiten bei der Bestimmung der p_{H} -Zahl an Ort und Stelle bei biologischen Wasseruntersuchungen gab mir Veranlassung, eine möglichst einfache Methode auszuarbeiten, die eventuell gleich im Boote unmittelbar nach der Schöpfung der Wasserprobe angestellt werden kann, und die möglichst wenig Zeit und Apparatur beansprucht.

Ein Bestimmungsmodus mittels Vergleichslösungen aus anorganischen, lichtbeständigen Salzlösungen, die in zugeschmolzenen Reagenzgläsern aufbewahrt und bequem mitgeführt werden können, wird demnächst in dem Archiv für Hydrobiologie (Stuttgart) erscheinen, auf den ich hier verweisen möchte. Bei den Vergleichslösungen, die zu den Bestimmungen mittels Thymolsulfonphthalein dienen, hat sich nun herausgestellt, daß die Farbnuancen, die in natürlichen Wässern mit dem Indikator auftreten, etwas anders ausfallen als in den Puffergemischen von bekanntem p_{H} . Ich glaube diese Farbdifferenzen auf den Einfluß des Ca- oder Mg-Ions zurückführen zu müssen (sogenannte Salzfehler). Auf diese Weise ist es mitunter schwierig, bei p_{H} , die über 8,5 liegen, die richtige Stelle in der Vergleichsreihe zu treffen. Die neu ausgearbeitete Methode verwendet nun keine vorrätigen Vergleichslösungen, sondern beruht auf einer kolorimetrischen

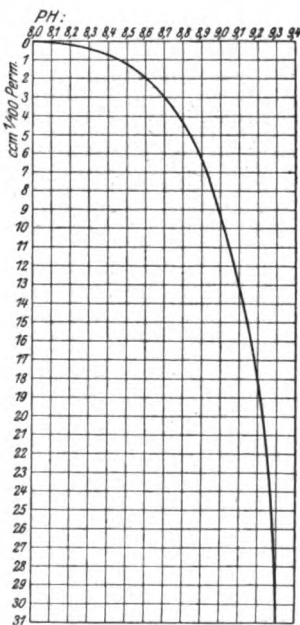


Abb. 1. Kurventafel zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration durch kolorimetrische Titration mittels Chamäleonlösung.

Titration unter Verwendung von $n/100$ Kaliumpermanganatlösung, die ohnehin stets gebraucht wird und deren Titer verhältnismäßig leicht zu bestimmen ist.

Ich verwende dazu zwei 200-g-Medizinflaschen aus weißem Glase. In die eine gebe ich 100 ccm des zu untersuchenden Seewassers und füge 0,5 ccm Phenolphthaleinlösung (1,0 g : 100 g Alkohol von 96 Proz.) zu. Die Indikatorlösung halte ich in einem braunen 30-g-Gläschen mit durchbohrtem Korkstopfen vorrätig, durch dessen Bohrung ein

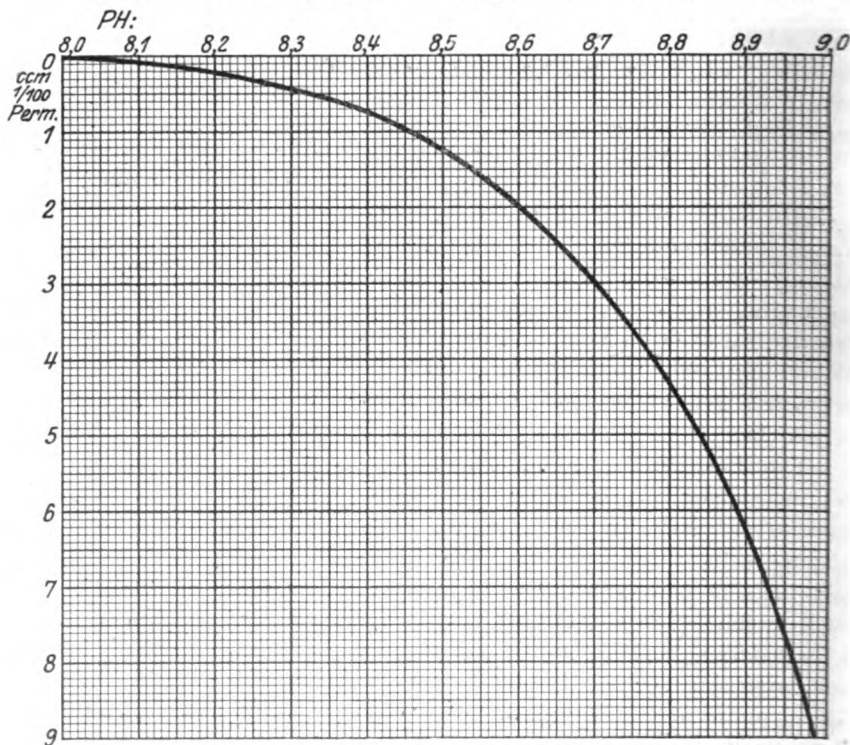


Abb. 2. Ausschnitt aus der Kurventafel Abb. 1.

Normaltropfenzähler eingeführt ist, der bei 0,5 ccm mit Marke versehen wurde. In das zweite Medizinglas kommen 100 ccm destillierten Wassers. Nun wird zu diesem solange aus einer Meßpipette von 5 ccm — ich verwende für meinen Wasseruntersuchungskasten 300-g-Gläser mit eingeschliffener Meßpipette — $n/100$ Kaliumpermanganatlösung unter Umschwenken zufließen lassen, bis Farbgleichheit eingetreten ist. Beobachtet wird über weißer Unterlage. Aus den nach dem Titer korrigierten Kubikzentimetern Chamäleonlösung kann man auf der beigefügten Kurve die p_H -Zahl direkt ablesen.

Es läßt sich auf die angegebene Weise das p_H zwischen 8,1 und 9,2 sehr genau bestimmen, nach meinen Erfahrungen sogar genauer als mit den üblichen Puffergemischen. Die Genauigkeit ist vielleicht weniger eine absolute als eine relative, da eine haarscharfe Festlegung der Kurve mittels der Puffergemische nicht möglich ist. Jedenfalls kann man viel geringere Unterschiede feststellen, wie sonst möglich ist.

Die Methode ist auch für kleinere Untersuchungsmengen anwendbar. In diesem Falle nimmt man den Versuch im Reagenzglase vor, am besten mit 10 ccm, unter Verwendung einer in $\frac{1}{50}$ ccm geteilten 2-ccm-Meßpipette und 0,5 ccm Phenolphthaleinlösung (0,1 g : 100 g Alkohol von 96 Proz.). Beim Ablesen auf der Kurventafel hat man natürlich dann die verbrauchten Kubikzentimeter Chamäleonlösung mit 10 zu multiplizieren.

Literatur.

L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin, Julius Springer.
— *J. M. Kolthoff*, Der Gebrauch von Farbenindikatoren. Berlin, Julius Springer.
— *Sven Palitzsch*, Über die Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers. Publications de circonstance du conseil permanent international pour l'exploration de la mer Nr. 60. Kopenhagen, Andr. Fr. Høst & Fils.
— *Derselbe*, diese Zeitschr. 87, 116.
— *Derselbe*, ebendasselbst 70, 333.
— *S. P. L. Sørensen* und *S. Palitzsch*, ebendasselbst 51, 307.

Über die Verteilung des Blutzuckers auf Körperchen und Plasma.

Von

Franz Högler und K. Ueberrack.

(Aus der I., früher III. medizinischen Abteilung und dem chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabethspitals in Wien.)

(Eingegangen am 1. April 1924.)

In den letzten Jahren sind aus unserem Laboratorium eine Reihe von Arbeiten über die Verteilung der Elektrolyte und Anelektrolyte des Blutes auf Körperchen und Plasma erschienen¹⁾. In diesen wurde unter anderem der Beweis zu erbringen versucht, daß die Körperchen frei von Zucker seien. Da diese Angaben, denen Analysen von *M. Richter-Quittner* zugrunde lagen, nur zum kleinen Teil Zustimmung, zum großen Teil Ablehnung erfahren haben²⁾, so haben wir im Auftrage unseres Chefs, Prof. *Falta*, diese Frage noch einmal aufgenommen und uns zuerst mit der Verteilung des Zuckers auf Körperchen und Plasma beschäftigt.

Methode.

Wir verwendeten hauptsächlich die *Weiss*sche Modifikation der *Bang*schen Mikromethode, nachdem wir uns durch zahlreiche vergleichende Untersuchungen überzeugt hatten, daß bei Verwendung reiner Chemikalien diese mit der *Bertrand*schen Methode gut übereinstimmende Resultate ergibt. Zur Bestimmung des Gesamtblutzuckers wurde entweder Kapillarblut aus der Fingerbeere oder venöses Blut verwendet. Letzteres wurde entweder in paraffinierten Gefäßen aufgefangen und sofort abpipettiert oder es wurde durch Zusatz verschiedener gerinnungshemmender Substanzen ungerinnbar gemacht. Für die Bestimmung des Plasmazuckers wurde entweder Paraffinplasma oder Plasma, das durch Zusatz verschiedener gerinnungshemmender Substanzen gewonnen wurde, verwendet. Bei der

¹⁾ *W. Falta* und *M. Richter-Quittner*, diese Zeitschr. 100, 1919; 114, 1921; 129, 1922.

²⁾ *Brinkmann* und *van Dam*, ebendasselbst 105, 1920; *Csaki*, Wien. Arch. f. innere Med. 3, 1922; *Ege*, diese Zeitschr. 111, 1920; *Hagedorn*, ebendasselbst 107, 1920; *Bönninger*, ebendasselbst 122, 1921; *R. Offenbacher*, Deutsch. med. Wochenschr. 1922, S. 1677; *Braun*, Münch. klin. Wochenschr. 1922, S. 1103; *Folin* und *Berglund*, Journ. of biol. Chem. 51, 1921; u. a.

Gewinnung des Paraffinplasmas gingen wir so vor, daß das Blut der neben der Zentrifuge stehenden Versuchsperson direkt in paraffinierte Zentrifugierröhrchen aufgefangen, sofort zentrifugiert und nach etwa 3 bis 5 Minuten verarbeitet wurde. Wir haben uns öfters davon überzeugt, daß nach dieser Zeit das gewonnene Plasma bereits frei von Erythrocyten war. Von gerinnungshemmenden Substanzen verwendeten wir Natriumcitrat, Natriumoxalat, Natriumfluorid und Hirudin. Gesamtblut und Serum, das durch Schütteln mit Gasperlen gewonnen wird, erwiesen sich für eine so subtile Methode, wie es die *Weiss*sche ist, als weniger geeignet. In manchen Versuchen wurde auch der Zucker in dem auf gewöhnliche Weise gewonnenen Serum bestimmt. Das Blutkörperchenvolumen wurde mittels des Hämatokriten bestimmt, der Zuckergehalt der Körperchen indirekt durch Berechnung ermittelt.

In der Tabelle I finden sich die Versuche zusammengestellt, in welchen wir uns keiner gerinnungshemmenden Mittel bedienten. Das Blut wurde entweder aus der Kapillare oder aus der Vene direkt aufgesogen, oder es handelte sich in einzelnen Versuchen auch um Schüttelblut. Das Plasma ist durchweg Paraffinplasma. Die Zuckerwerte im Gesamtblute schwanken zwischen 71 und 124 mg-Proz. Diese immerhin großen Unterschiede beruhen zum Teil auf sehr verschiedener Ernährung, worüber Dr. *Radoslaw* später ausführlich berichten wird, zum Teil auch darauf, daß einzelne Individuen nicht völlig normal waren, z. B. Fall *Schweigh.*, der an Ischias, Fall *Cekl.*, der an Hyperthyreoidismus litt.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß, wie schon eingangs erwähnt wurde, die mittels der *Bertrand*schen und *Weiss*schen Methode gewonnenen Werte ziemlich gut übereinstimmen. Ferner daß da, wo neben dem Gesamtblut auch Kapillarblut untersucht wurde, eine befriedigende Übereinstimmung besteht.

Der Zuckergehalt des Plasmas schwankt zwischen 89 und 132 mg-Proz., da, wo Plasma und Serum gleichzeitig untersucht wurde, stimmen die Werte ziemlich gut überein.

In den Blutkörperchen fanden wir immer reichlich Zucker, und zwar schwankten die Werte zwischen 40 bis 100 mg-Proz. Eine Ausnahme machen nur der Fall *Kup*, bei dem einmal 9 Proz. nach der *Bertrand*schen, etwa 28 Proz. nach der *Weiss*schen Methode gefunden wurde, und der Fall *Cekl.* mit 125 mg-Proz.

In der Tabelle IIa verglichen wir sowohl das Kapillar- als auch das venöse Gesamtblut (ohne Zusatz von gerinnungshemmenden Agenzien) mit dem venösen Gesamtblute, das mit verschiedenen Mengen von Natriumoxalat versetzt war. Die Werte, die wir erhielten, standen untereinander in guter Übereinstimmung.

Im Plasma finden sich bei Verwendung von geringen Oxalatmengen niedrigere Werte. Erst bei Verwendung von 0,5 bis 1 Proz. finden sich Werte, die mit denen im Serum gut übereinstimmen.

Tabelle I.

Name und Diagnose	Art der Gewinnung	Methode	Gesamtblut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.
						Volu- men	Proz. in mg	
17. XII. <i>Schol.</i> Normal	Kap.-Blut Ven. Blut	<i>Weiss</i> "	102,1 105,7 110,3 115,0	— — 107,5 110,3	— — — —	43	82	0,75
18. XII. <i>Cekl.</i> Hyperthy- reoidis- mus	Kap.-Blut Ven. Blut	" "	115,0 113,2 118,5 123,9	— — 128,2 127,5	— — — —	45,5 46,0	114	0,89
7. I. <i>Cekl.</i> Hyperthy- reoidis- mus	Kap.-Blut Ven. Blut	" "	103,5 108,1 100,0 103,5	— — 121,4 119,6	— — — —	45	82	0,68
19. XII. <i>Arb.</i> Normal	Kap.-Blut Ven. Blut	" "	103,5 103,5 96,4 102,5	— — 123,8 125,0	— — — —	44	65	0,52
21. XII. <i>Mad.</i> Normal	Kap.-Blut Ven. Blut	" "	84,2 81,1 81,1 87,5	— — 92,8 89,2	— — — —	38,5	73	0,80
12. I. <i>Koneč.</i> Normal	Schüttel- blut	" <i>Bertrand</i>	79,2 71,2	95,7 92,9 90,8 90,9	— — — —	41,5	58 44	0,62 0,48
26. I. <i>Reisch.</i> Normal	Ven. Blut	<i>Weiss</i>	88,2	123,2 116,1	— —	36 36,5	34	0,28
8. II. <i>Kast.</i> Normal	Ven. Blut	"	89,1 92,8	—	103,6 107,1 109,6 ²⁾	39,5	69 62	0,65 0,56
25. I. <i>Kast.</i> Normal	Ven. Blut	"	96,4 100,2	113,9 110,7	— —	—	76	0,68
					116,0 ³⁾ 117,8 111,7 Proz. ⁴⁾ 111,0 "	38 38	68 72	0,58 0,63

¹⁾ Wurde 1 Stunde nach Entnahme angesetzt.

²⁾ Wurde 2 Stunden nach Entnahme verarbeitet. Beide Sera wurden aus paraffiniertem Plasma gewonnen.

³⁾ Serum wurde 1 Stunde nach Blutentnahme verarbeitet.

⁴⁾ Serum wurde 3½ Stunden nach Blutentnahme verarbeitet.

Tabelle I (Fortsetzung).

Name und Diagnose	Art der Gewinnung	Methode	Gesamtblut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.
						Vos- lumen	Proz. in mg	
6. IX. <i>Sob.</i> Normal	Schüttel- blut	<i>Bertrand</i>	100,2 93,6	—	115,7 125,5	42 42	64	0,53
11. IX. <i>Zahn.</i> Normal	"	"	74,3 77,1		108,9 110,4		46	0,68
		<i>Weiss</i>	77,8	—	104,4 102,8	52 52	73	0,93
7. IX. <i>Auerb.</i> Normal	"	<i>Bertrand</i>	105,3 105	108,3 —	123,5 122,0		69	0,56
		<i>Weiss</i>	88,9	94,2	115,0 113,2		50	0,44
12. XI. <i>Schneid.</i> Normal	"	<i>Bertrand</i>	110,4 104,8		132,0 129,0		74	0,56
		<i>Weiss</i>	107,8			40,5 40,5		
13. IX. <i>Kub.</i> Normal	"	<i>Bertrand</i>	77,2 79,8		144,3 140,0	47,5	9	0,07
		<i>Weiss</i>	86,4 81,0	83,9 85,0	139,7 132,5 134,6		28	0,21
22. XI. <i>Schweigh.</i> Ischias.	"	"	97,1 92,8		126,2 120,3	49,5	67	0,54
		<i>Bertrand</i>	91,6 91,6	92,1	136,0 132,3	50,0	50	0,37
26. IX. <i>Mader</i> Normal	Kap.-Blut	<i>Weiss</i>	89,3 87,8					
	Schüttel- blut	"	96,4			43		
		<i>Bertrand</i>	95,8 97,5		135,0 140,0	43	42	0,30
12. XII. <i>Schweigh.</i> Ischias	Ven. Blut	<i>Weiss</i>	115,5 118,7		135,5 144,6	47,6 48,0	92	0,65
13. XII. <i>Gebh.</i> Chron. Gastritis	Kap.-Blut	"	95,7 100,0					
	Ven. Blut	"	96,0 93,6		92,0 92,0	46	96	1,04
19. IX. <i>Schneid.</i> Normal	Schüttel- blut	"	102,1 98,2		142,1 132,1	43,5 43,5	52	0,38
14. XII. <i>Cekl.</i> Leichter Hyperthy- reoidis- mus	Kap.-Blut	"	121,4					
	Ven. Blut	"	125,0 128,5	132,1 130,3		39,5 40,0	125	0,91

Bei Hämolyse fanden wir immer zu hohe Werte.

In den Körperchen fanden wir denselben Prozentgehalt an Zucker, wie wir oben angegeben haben.

In der Tabelle IIb sind die Blutzuckerwerte zusammengestellt, die bei Verwendung von verschiedenen Natriumcitratmengen erhalten wurden. Auch hier stimmten die Gesamtblutwerte mit und ohne Zugabe von Citrat gut überein. Bei Verwendung von ungenügenden Citratmengen erhielten wir zu tiefe Werte, bei Verwendung von größeren Mengen dagegen zu hohe; bei letzteren trat größtenteils Hämolyse oder Trübung auf.

In den Körperchen fand sich regelmäßig Zucker in den bereits angegebenen Quantitäten.

Bei Verwendung verschiedener Mengen Natriumfluorid (s. Tab. IIc) erhielten wir im Gesamtblute dieselben Werte wie im direkt gewonnenen venösen Gesamtblute. Bei Verwendung von zu geringen Mengen Natriumfluorid fanden sich im Plasma niedrigere Werte. Bei höheren Konzentrationen von Natriumfluorid stimmten die Zuckerwerte des Plasmas mit denen des Serums gut überein.

Die Körperchen enthielten ebenfalls regelmäßig reichlich Zucker.

Versuche mit Hirudinblut (s. Tab. II d): Die Werte des direkt gewonnenen venösen Gesamtblutes und des Hirudin-Gesamtblutes stimmen gut überein. Die Werte des Paraffinplasmas und des Serums einerseits und des Hirudinplasmas andererseits stimmen ebenfalls überein.

In den Körperchen wurde regelmäßig reichlich Zucker gefunden.

In der letzten Tabelle III haben wir einige Kaninchenversuche zusammengestellt. Die Werte im Paraffinplasma und Serum stimmten mit Ausnahme eines Falles gut überein.

In den Körperchen fand sich in drei Fällen praktisch kein Zucker, da die gefundenen Abweichungen vom Nullpunkte innerhalb der Fehlergrenzen des Methode gelegen sind. Bei 2 Fällen fanden wir zwar deutliche Zuckermengen in den Körperchen, aber weniger als in den menschlichen Blutkörperchen. Der eine Wert von 69 mg-Proz. dürfte wohl fehlerhaft sein, da das Serum sehr spät verarbeitet wurde.

Unsere Versuche ergeben demnach folgende Resultate.

1. *Bei den Kaninchen fanden wir in Übereinstimmung mit vielen Autoren (Ege, Rona und Takahashi, Masing) einen sehr geringen Zucker-gehalt der Blutkörperchen. Das Verhältnis von Körperchenzucker zu Plasmazucker ergibt einen sehr niedrigen Wert.*

2. *Beim Menschen fanden wir bei Verwendung gerinnungshemmender Substanzen im Plasma regelmäßig zu niedrige Blutzuckerwerte, wenn zu geringe Mengen der gerinnungshemmenden Mittel gebraucht wurden. Diese Resultate stimmen mit den Angaben von Brinkman gut überein. Bei Eintritt von Hämolyse fanden wir meist zu hohe Werte.*

Name und Diagnose	Art der Gewinnung	Methode	Gesamtblut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.	Anmerkungen
						Volumen	Proz. in mg		
16. I. Kast.	Kapillarblut	Weiss	109,2 112,5 107,5	—	—	—	—	—	
	Venöses Blut	"	105,0 98,6	—	—	37	68	0,53	
	Oxalatblut, 1proz.	"	102,1 111,0 111,5	127,1 130,0 136,0 137,0	—	—	67	0,49	1) Wurde etwa $\frac{3}{4}$ Stunden nach Entnahme verarbeitet.
		Bertrand			131,4 ¹⁾	—	—	—	Hämatokrit wurde mit 1proz. Oxalatblut angesetzt.
		Weiss	75	—	—	35	—	—	Hämolysen zeigte sich bei keinem Plasma, dagegen waren alle, mit Ausnahme des 0,1proz. Oxalatplasmas, getrübt.
17. I. Reisch.	Venöses Blut	Weiss	81,4	89,2? 96,4?	—	—	—	—	
	Oxalatblut, 0,1proz.	"		105,3 100,0 105,3	—	—	42 37	0,40 0,35	
	" 0,5proz.	"			—	—	—	—	
	" 1proz.	"	78,5	—	—	—	—	—	2) Serum nach etwa $\frac{3}{4}$ Stunden verarbeitet.
	" 1,5proz.	"	75,0	—	110 ²⁾	—	—	—	Hämatokrit mit 1proz. Oxalat.
22. I. Kast.	Venöses Blut	"	85,7 85,7	—	—	—	—	—	
	Ven. Blut, 0,1proz.	"	87,5	94,6?	—	—	—	—	3) 1proz. Plasma hämolytisch, die anderen Plasmas nicht hämolytisch.
	Oxalat	"	83,9	96,4? 93,8? 98,5?	—	—	—	—	
	Ven. Blut, 0,3proz.	"		105,3 100,0 120,4? ³⁾ 115,8?	—	32	50	0,49	
	Oxalat	"			—	—	—	—	
	Ven. Blut, 0,5proz.	"			—	—	—	—	
	" 1proz.	"			107,4 ⁴⁾ 103,5	—	42	0,40	4) Serum wurde etwa 45 Min. nach Blutentnahme angesetzt.

Tabelle IIb (Citratblut).

Name und Diagnose	Art der Gewinnung	Methode	Gesamt- blut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.	Anmerkungen
						Volumen	Proz. in mg		
7. XII. Arber.	Citratblut, 0,5proz.	Bertrand	96,4 95,5	124,9	—	38,8 39,0	50	0,40	
30. XI. Gebh.	" 1proz.	Weiss	94,2 94,2	113,9 116,1	—	43	64	0,56	
		Bertrand	94,4 93,2						
7. XII. Cekl.	" 1proz.	"	124,9 125,2	129,7 124,9	—	38,0 38,5	120	0,95	
14. I. Reisch.	Kapillarblut Venöses Blut	Weiss "	90,0 Proz. 84,2 84,2						
		Bertrand	91,3 90,0	115,7 120,0	—		45	0,38	
	Citratblut, 1proz.	Weiss	86,1 84,2	102,1 105,7	—	37,5	59	0,56	
15. I. Schid.	Venöses Blut	"	95,3 95,3						Plasma bei 1,5 Proz. in 1proz. Citrat etwas hämolytisch. Hämatokrit wurde mit 1proz. Citrat- blut ausgeführt.
	Citratblut, 0,1proz.	"		130,1 124,3			46	0,36	
	" 0,5proz.	"		119,6 123,1		42	49	0,40	
	" 1proz.	"		139,2? 139,2?			—	—	
	" 1,5proz.	"		146,4? 148,5?			—	—	

Tabelle IIc. (Natriumfluorid)

Name und Diagnose	Art der Gewinnung	Methode	Gesamtblut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.	Anmerkungen
						Volumen	Proz. in mg		
18. I. Kas. normal	Venöses Blut	Weiss	106,7	—	—	—	—	—	Plasma nicht hämolytisch, zeigten aber mit steigendem Prozentsatz von Natriumfluorid Trübung. Hämatokrit wurde aus dem 1proz. NaF-Ges.-Blut gewonnen
	Venöses Blut, 0,1proz. NaF	"	106,4	117,8?	—	—	—	—	
	Venöses Blut, 0,5proz. NaF	"	108,9	114,2?	—	—	—	—	
	Venöses Blut, 1proz. NaF	"	110,7	126,8	—	36	72	0,55	
	Venöses Blut, 1proz. NaF	"	—	133,9	—	—	76	0,58	
28. I. Kas.	Venöses Blut	"	—	129,2	125,3 ¹⁾	—	72	0,69	1) Spontan Serum etwa 1 Std. 20 Min. nach Entnahme verarbeitet
	Venöses Blut, 0,3proz. NaF	"	91,1 88,5	—	—	40 40,5	—	—	Hämatokrit wurde mit 0,3proz. NaF-Ges.-Blut angesetzt
	Venöses Blut, 0,3proz. NaF	"	—	114,2 120,5	—	—	52	0,44	
30. I. Kas.	Venöses Blut	"	79,2 79,2	—	—	41	—	—	
	Venöses Blut, 0,3proz. NaF	"	—	94,1 94,1	85,7 ²⁾ 89,2	—	60 67	0,64 0,79	2) Serum etwa 2 Std. 30 Min. nach Entnahme verarbeitet

Tabelle II d. Hirudinblut

Name und Diagnose	Art der Gewinnung	Methode	Gesamt- blut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.	Anmerkungen
						Volumen	Proz. in mg		
20. II. Kast.	Venöses Blut	Weiss	100 98,2	107,1 ¹⁾ 103,7	—	—	91	0,86	1) Paraffiniertes Plasma.
	Hirudinblut, 2 mg ad 10 cem	"	101,8 103,7	—	—	47	—	—	
	Venöses Blut	"	95,7 96,4	114,2 114,2	116,1 ²⁾ 121,7	50	76 78	0,64 0,69	2) Serum aus paraffiniertem Plasma ge- wonnen.
22. II. Tritt.	Hirudinblut, 2 mg ad 10 cem	"	99,2 96,4	107,1 107,1 110,7	—	—	87	0,80	
	Venöses Blut	"	94,6 92,8	110,7 112,5	112,5 ³⁾ 114,2 116,1 ⁴⁾ 114,2	53	78 77 77	0,69 0,67 0,69	3) Serum wurde aus paraffiniertem Plasma, das vorher vom Blutkuchen ge- trennt war, gewonnen. 4) Serum wurde durch Stehenlassen, aus paraffiniertem Plasma gewonnen.
	Hirudinblut, 2 mg ad 10 cem	"	94,6 97,1	100 103,9 97,6 97,6	—	—	92	0,92	
23. II. Fecht.					110,0 ⁵⁾ 106,3		86	0,79	5) Serum wurde 1 Stunde nach Blut- entnahme verarbeitet.

Tabelle III. (Kaninchenversuche.)

Art der Gewinnung	Methode	Gesamtblut	Plasma	Serum	Körperchen		Kp. D. Pl. D.	Anmerkungen
					Volumen	Proz. in mg		
Ven. Blut	Weiss	107,2 111,1	158,9 160,6	spontan Serum		10,8	0,068	Hämatokritbestimm. wurde mit 0,5proz. Citratblut ausgeführt.
					34 34			
				160,6 160,6		9,1	0,060	
		116,0 114,2	150,0 146,4			38	0,26	
"	"				30 30			
				133,9 ¹⁾ 135,7		69 ?	0,51 ?	¹⁾ Spontan Serum 65 Min. nach Entnahme verarbeitet.
"	"	96,4 92,8	132,1 132,1			30	0,23	Hämatokritbestimm. 0,5proz. Citratblut.
				132,2 ²⁾		—		Hämatokritbestimm. wurde mit 0,5proz. Citratblut ausgeführt.
					36,5 37,0			²⁾ Serum 45 Min. nach Entnahme verarbeitet.
				132,1 ³⁾ 132,1		30	0,23	³⁾ Serum 1 St. 20 Min. nach Entn. verarbeitet.
"	"	103,5 107,1	—	167,8 171,4	35 35	— 13	— 0,08	Hämatokritbestimm. mit 0,5proz. Citratblut ausgeführt.
"	"	85,7 85,7	132,1 132,1	—	33 33	— 8	— 0,06	Hämatokritbestimm. wie oben.

3. Bei Verwendung genügender Mengen gerinnungshemmender Substanzen und bei Anwendung nicht hämolysierten Plasmas stimmten die Blutzuckerwerte sowohl im paraffinierten Plasma, im Spontanserum und im Schüttelblutserum als auch im Hirudin-, im Natriumfluorid- und Natriumoxalatplasma ziemlich gut überein.

4. In den Blutkörperchen fand sich regelmäßig reichlich Zucker, und zwar meist zwischen 50 und 80 mg-Proz.

Die früheren Angaben aus der hiesigen Anstalt¹⁾ über die Verteilung des Zuckers auf Körperchen und Plasma beruhen auf einer fehlerhaften Ausführung der chemischen Methode und müssen daher zurückgenommen werden.

¹⁾ Siehe Einleitung.

Zur Chemie der Wassermannreaktion und der Antikörper. III.

Von

J. Forssman.

(Aus dem pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

(Eingegangen am 31. März 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Bekanntlich gehen die Meinungen betreffs der Natur derjenigen Substanz, welche bei der positiven Wassermannreaktion ausschlaggebend ist, der sogenannten Wassermannsubstanz (unten immer nur mit WS bezeichnet), noch weit auseinander. Während einige sie als einen Antikörper auffassen, glauben andere, daß sie ein abnormes Umsetzungsprodukt ist, das die Syphilisspirochäten im Organismus hervorrufen. Noch eine dritte Deutungsmöglichkeit der positiven Wassermannreaktion (später nur mit WR bezeichnet) liegt vor, nämlich, daß die positive WR nicht vom Auftreten einer neuen Substanz herrührt, sondern vom Wegfallen der einen von zwei in Normalseren vorkommenden, einander in Gleichgewicht haltenden Substanzen. Die positive WR würde sodann auf der zweiten, zurückgebliebenen, von ihrem Opponenten befreiten, aber schon in Normalseren vorkommenden Substanz beruhen, welche also die WS repräsentiert.

Wie dem auch sei, möchte ich hier nun nicht das Für und Wider dieser verschiedenen Auffassungen besprechen. Es genüge hervorzuheben, daß weder für die eine noch die andere Auffassung eindeutige Beweise vorgebracht worden sind, soweit ich es beurteilen kann. Und sicherlich sind auch solche Beweise nicht leicht zu erbringen.

Indessen ist es doch vielleicht möglich, eine Vorstellung von der Natur der WS zu erwerben, wenn es gelingt, eine Reihe für sie charakteristische Reaktionen zu finden. So habe ich neulich z. B. ihre Ätherempfindlichkeit beim Inaktivieren nachgewiesen (1), eine Reaktion, die sie mit einigen Antikörpern gemeinsam hat.

In dieser Richtung fortgesetzte Untersuchungen führten mich zu dem Standpunkte derer, welche die WS als ein abnormes Umsetzungs-

produkt deuten. Diese Forscher stellen sich im allgemeinen vor, daß es das Eiweiß ist, das hierbei in abnormer Weise zerfällt. In diesem Falle liegt dann der Gedanke am nächsten, daß das Eiweiß in seine Bausteine, in Aminosäuren, zerfällt, welche in denluetischen Seren — im Gegensatz zu normalen — entweder in größerer Menge oder vielleicht in abnormen Kombinationen vorkommen. Ob diese Möglichkeit vorliegt oder nicht, kann aber experimentell geprüft werden, da die Aminosäuren durch mehrere chemische Reaktionen charakterisiert sind. Unter anderem reagieren sie bekanntlich mit Formol unter Bildung von Methylenverbindungen. Da eine Untersuchung der WS in bezug auf ihre Reaktionsfähigkeit mit Formol deswegen von Interesse ist, habe ich eine solche vorgenommen und gebe deren Resultate unten wieder.

Diese Prüfung ist um so mehr angezeigt, als *Dold* (2) nachgewiesen hat, daß die *Sachs-Georgische* Reaktion bei Syphilis durch Formol aufgehoben wird. Er sagt aber betreffs der Formolprüfung bei der WR, daß eine solche Prüfung unmöglich ist, „da der Formaldehyd auch auf das hämolytische System — wie übrigens schon von *Uhlenhuth* und *Weidanz* bei anderer Gelegenheit beobachtet wurde — hemmend einwirkt, so daß in allen Proben (negativen wie positiven) Hemmung der Hämolyse eintritt“.

Dold wendet zur Aufhebung der Reaktionsfähigkeit der positiven Sera 1 bis 2 Tropfen einer 17,5proz. Formollösung auf 0,4 ccm Serum an, d. h. die Mischung wird ungefähr 2,5 bis 5 Proz. Formol enthalten (wenn man annimmt, daß 15 Tropfen auf 1 ccm kommen). Eine solche Formolkonzentration können aber sogar die Blutkörperchen nicht aushalten.

Um Blutkörperchen aufzubewahren, empfiehlt es sich nämlich, nach *Armand-Deville* und *Launoy* (3), einer 50proz. Blutkörperchenaufschwemmung nicht mehr als 2 Prom. Formol zuzusetzen. Für eine 5proz. Blutkörperchenaufschwemmung sind indessen schon 2 Prom. Formol, wie *Eisler* (4) gezeigt hat, nicht unschädlich, und 2 bis 5 Proz. Formol verderben die Blutkörperchen sehr schnell. Daß eine solche Formolkonzentration auch die anderen Faktoren des hämolytischen Systems zerstört, ist einleuchtend in Anbetracht der Empfindlichkeit sowohl des Amboceptors wie ganz besonders des Komplements.

Man muß also erstens viel niedrigere Formolkonzentrationen anwenden, um das hämolytische System nicht zu schädigen, und zweitens ist es selbstverständlich eine notwendige Voraussetzung, um bei der WR mit Formol überhaupt ein Resultat zu bekommen, daß die WS für solche kleinen Mengen Formol, welche das hämolytische System nicht beeinflussen, noch empfindlich ist.

Formollösungen bei der WR.

Verschiedene Formollösungen¹⁾ wurden nun hinsichtlich ihres Verhaltens bei der WR in der Weise geprüft, daß anstatt eines zu prüfenden Serums eine Formollösung in den Wassermannversuch eingesetzt wurde. In der Kontrollprobe *ohne* Antigen sah man dann, wie sich die Formollösung bei der für die WR gebräuchlichen Versuchsanordnung dem hämolytischen System gegenüber verhielt, und aus den Röhrchen *mit* Antigen, ob die Lösung überhaupt irgend eine solche Einwirkung auf die Reaktion ausübte, daß eine positive Reaktion dadurch vorgetäuscht werden konnte.

Folgende Lösungen wurden nun in dieser Weise untersucht: 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,3 und 0,1 cem Formol auf 1000 cem physiologischer Kochsalzlösung; von diesen Lösungen wurden, wie in gewöhnlichen Wassermannversuchen, 0,2 cem genommen. Da hierzu 0,5 cem Komplement (Verdünnung 1 : 10) und 0,8 cem Antigenverdünnung bzw. Kochsalzlösung zugefügt wurden, war also die Formollösung schon bei ihrer Einwirkung auf das Komplement noch siebenmal verdünnt. Wurden z. B. 0,2 cem von der Lösung 3 : 1000 genommen, so wirkt demnach das Formol im Versuche nur in einer Konzentration von 3 : 7000.

Hierbei erwiesen sich Formollösungen von 3 : 1000 und darunter sowohl für das hämolytische System wie für die WR unschädlich (Tabelle I, 1 bis 4).

Die Formolwirkung auf Sera.

Wird nun anstatt der physiologischen Kochsalzlösung Serum zur Verdünnung der Formalinlösung verwandt, oder mit anderen Worten, wird Formol zu Serum anstatt zu Kochsalzlösung zugefügt, so erhält man andere Werte für die unschädlichen Formolkonzentrationen dem

¹⁾ Alle in dieser Arbeit vorkommenden Formollösungen sind aus einer angeblich 40proz. Formollösung mit physiologischer NaCl-Lösung bereitet. Bei Titrierung erwies sich aber diese Formolstammlösung nur als 36,75proz., weshalb alle unten benutzten Formollösungen ein wenig schwächer sind als angegeben ist, da sie alle so berechnet sind, als ob die Stammlösung 40proz. wäre. Dies bedeutet jedoch für die prinzipiellen Ergebnisse nichts. Eine 1proz. Formollösung ist immer so bereitet, daß 1 Teil von der Formolstammlösung mit 999 Teilen Kochsalzlösung gemischt wird usw., so daß also die Promilleziffer auf die Stammlösung nicht auf den Gehalt an reinem Aldehyd hindeutet. Die Stammlösung hatte, wie alle starken Formollösungen, eine stark saure Reaktion. In vergleichenden Versuchen wurde festgestellt, daß es belanglos war, ob die Stammlösung vor der Bereitung der verdünnten, in den untenstehenden Versuchen zur Verwendung kommenden Lösungen neutralisiert wurde oder nicht. Es war naheliegend, dies anzunehmen, in Anbetracht der hochgradigen Verdünnungen, die benutzt wurden. Im allgemeinen sind deswegen die Formoldosen in den Versuchen aus nicht neutralisiertem Formalin bereitet.

hämolytischen System und der WR gegenüber. Eine Formolkonzentration von 3:1000 erweist sich dann nicht mehr belanglos. In der Tabelle I sieht man die Wirkung eines Formolzusatzes zu Seren. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß eine Formolkonzentration von 3 bzw. 2:1000 sonst nicht selbsthemmende Sera wie die Sera L und Br der Tabelle I in selbsthemmende umwandelt.

Tabelle I.

Hier und in allen folgenden Tabellen bedeuten: — negative WR, (—) negative WR mit einer unbedeutenden Hemmung; + positive WR und (+) positive WR mit geringer Lösung von Blutkörperchen. Form. = Formol und NaCl-L = eine physiologische Kochsalzlösung.

	WR mit folgenden Dosen				Kontrolle ohne; Antigen 0,2 ccm
	0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	
1. 0,004 ccm Form. + 1 ccm NaCl-L	+	—	—	—	+
2. 0,003 " " + 1 " "	—	—	—	—	—
3. 0,002 " " + 1 " "	—	—	—	—	—
4. 0,001 " " + 1 " "	—	—	—	—	—
5. 0,003 " " + 1 " Ser. L	+	(—)	—	—	+
6. 0,002 " " + 1 " "	+	(+)	—	—	+
7. 0,001 " " + 1 " "	+	—	—	—	—
Kontrolle 1 ccm Ser. L	—	—	—	—	—
" 1 ccm " inaktiviert	—	—	—	—	—
8. 0,003 ccm Form. + 1 ccm Ser. Br	+	+	+	+	+
9. 0,002 " " + 1 " "	+	+	+	+	+
10. 0,001 " " + 1 " "	+	+	+	+	—
11. Kontrolle 1 ccm Ser.-Br	+	+	+	+	—
12. " 1 " " inaktiviert	+	+	+	+	—

Dieser Versuch, der mit aktiven Seren vorgenommen wurde, ist selbstverständlich mit einer ganzen Menge sowohl positiver wie negativer Sera kontrolliert worden, und zwar immer mit prinzipiell demselben Resultat, nur daß bei einigen Seren die Selbsthemmung schon nach Zusatz von 0,001 ccm Formol pro Kubikzentimeter Serum ein wenig hervortrat, während bei anderen sogar 0,002 ccm Formol pro Kubikzentimeter Serum nur eine Spur von Hemmung bewirkte. Hierbei ist es gleichgültig, ob die Sera aktiv oder inaktiv sind. Die Selbsthemmung wird in beiden Fällen in gleicher Weise durch das Formol hervorgerufen.

Wie eben gesagt und übrigens auch aus der Tabelle ersichtlich ist, verhalten sich positive und negative Sera in dieser Beziehung gleich (das Serum L ist ein negatives und das Serum Br ein positives Serum, 5 bis 12 in der Tabelle). Bei den negativen Seren wird auch die WR durch den Formolzusatz positiv, aber das ist hauptsächlich nur die

Selbsthemmung, die sich auch in den mit Antigen versetzten WR-Röhrchen bemerkbar macht (5) (6). Indessen findet man doch mitunter, daß auch die WR hierbei ohne gleichzeitige Selbsthemmung auftreten kann (7), nämlich dort, wo die Formolkonzentration auf der Grenze zur Wirkungslosigkeit liegt.

Bei den positiven Sera scheint *diese* Formolbehandlung deren WR nicht zu verändern.

In allen hierher gehörigen Versuchen ist nämlich das Formol den Seren immer *unmittelbar vor der Anstellung der WR zugefügt* worden, so daß die Beeinflussung der Sera nur kurze Zeit dauerte. In der folgenden Versuchsreihe habe ich dagegen die Versuchsanordnung in der Weise verändert, daß das Formol entweder längere Zeit oder bei höherer Temperatur mit den Seren vermischt war, um dadurch seine Einwirkung zu verstärken.

Hierbei wurde folgendermaßen verfahren: Von jedem Serum wurde a) ein Teil im Eisschranke aufbewahrt, um kurz vor dem Ausführen der WR mit Formol versetzt und dann inaktiviert zu werden; das übrige wurde mit Formol versetzt und b) ein Teil hiervon bei 8° bis 24 Stunden, c) ein zweiter Teil bei 18° und d) ein dritter bei 37° während derselben Zeit stehengelassen, worauf mit allen diesen formolisierten Proben gleichzeitig die WR ausgeführt wurde.

Alle die verschiedenen in dieser Weise vorgenommenen Versuche ergaben ungefähr dasselbe Resultat mit einigen, unten näher erwähnten Ausnahmen. Unter solchen Umständen kann ich mich darauf beschränken, die Ergebnisse nur der inaktivierten Proben hier tabellarisch wiederzugeben.

Tabelle II.

		WR mit folgenden Dosen.				Kontrolle ohne Antigen 0,2 ccm
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	
1. 0,002	} ccm Form. + 1 ccm Ser. H, inaktiviert	+	(+)	(—)	—	+
2. 0,001		+	(+)	—	—	+
3. 0,0005		+	+	(—)	—	+
4. 0,0003		+	+	+	—	—
5. 0,0001		+	+	+	—	—
6. Kontrolle Ser. H, aktiv		+	+	+	+	—
7. " " inaktiviert . .		+	+	+	—	—
8. 0,002	} ccm Form. + 1 ccm Ser. G, inaktiviert	+	(+)	—	—	+
9. 0,001		(+)	—	—	—	(+)
10. 0,0005		(—)	(—)	—	—	(—)
11. Kontrolle Ser. G, aktiv		—	—	—	—	—
12. " " inaktiviert . .		—	—	—	—	—

Bei den beiden hier als Beispiel angeführten Seren bewirkt schon ein Gehalt von 1 Prom. Formol Selbsthemmung (2) (9), und sogar $\frac{1}{2}$ Prom. hat bei dem positiven Serum denselben Effekt (3). Diese beiden Sera stellen jedoch die Extreme in bezug auf Selbsthemmung dar. Von den zehn in diesem Zusammenhang untersuchten Seren, fünf positiven und fünf negativen, gab nur das hier aufgeführte Serum H Selbsthemmung bei einem Gehalt von $\frac{1}{2}$ Prom. Formol, einige sogar erst bei 3 Prom. Formol. *Im großen und ganzen kann man deswegen sagen, daß die eine Selbsthemmung erzeugende Wirkung des Formols bei der hier benutzten Versuchsanordnung ungefähr dieselbe ist wie dort, wo das Formol unmittelbar vor der WR zugefügt wurde.*

Gleichzeitig mit dieser auf Selbsthemmung beruhenden Veränderung der Sera durch Formol sieht man indessen hier noch eine andere Veränderung bei den positiven Seren auftreten, die sich bei der zuerst benutzten Versuchsanordnung nicht zeigte. Man sollte doch erwarten, daß, da das Formol eine Selbsthemmung bewirkt, auch die WR dadurch verstärkt werden würde. Aber wenn man 7. mit 2. vergleicht, so findet man, daß die WR trotz der hervorgerufenen Selbsthemmung durch das Formalin bedeutend abgeschwächt worden ist.

In 4. und 5. ist offenbar die Formolmenge zu gering, um entweder Selbsthemmung zu bewirken oder die WR zu beeinflussen, in 3. dagegen, wo Selbsthemmung auftritt, hat das Formol die WR schon ein wenig verringert. Erst in 2. tritt, wie schon gesagt, die zerstörende Wirkung des Formols auf die WS vollkommen deutlich hervor. In 1. ist dagegen die Formolmenge so groß, daß die Zerstörung der WS beinahe durch die zunehmende Selbsthemmung verdeckt wird.

Das Formol übt demnach eine zweifache Wirkung auf die positiven Sera aus, eine Selbsthemmung erzeugende und eine die WS vertilgende. Ich werde später hierauf zurückkommen.

Die formolisierten Serumproben in Tabelle II wurden, wie gesagt, inaktiviert. Läßt man nun das Formol anstatt nur beim Inaktivieren längere Zeit, z. B. 24 Stunden bei 37 bzw. 20 oder 8°, auf die Serumproben einwirken, so erhält man ungefähr dieselben Resultate, nur daß die Selbsthemmung — mitunter sogar nicht unerheblich — stärker und die WS-zerstörende Wirkung schwächer wird; dies ist vor allem bei 20 und 8° der Fall.

Es ist hierbei einerlei, ob die *positiven* Sera im Augenblick der Formolisierung *aktiv* oder schon *inaktiviert* sind.

Bekanntlich reagieren einige *negative* Sera als *aktiv positiv*. Ruft das Formol dieselben Veränderungen bei diesen wie bei den wirklich positiven Seren hervor?

Ein Beispiel für das Formolisierungsergebnis eines Serums der letztgenannten Gruppe gibt die Tabelle III.

Tabelle III.

		WR mit folgenden Dosen				Kontrolle ohne Antigen 0,2 ccm	
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm		
1.	0,002	} ccm Form. + 1 ccm Ser. E 37° 24 Std.	+	+	(+)	—	+
2.	0,001		(+)	—	—	—	(+)
3.	0,0005		+	+	(—)	—	—
4.	wie 1.	} 37° 24 Std., dann inaktiviert	+	+	—	—	+
5.	" 2.		(+)	—	—	—	(+)
6.	" 3.		(—)	—	—	—	(—)
7.	" 1.	} Form. unmittelbar vor der WR zugesetzt, inaktiviert	+	—	—	—	(—)
8.	" 2.		—	—	—	—	—
9.	" 3.		—	—	—	—	—
10.	Kontrolle Ser. E, aktiv		+	+	+	+	—
11.	" " " inaktiviert . .		—	—	—	—	—

Vergleicht man 1. und 2. mit 7. und 8., so findet man sofort, daß nach 24stündiger Erwärmung bei 37° das Formol stärkere Selbsthemmung bewirkt als nach dem Inaktivieren. Aus 4. und 5. geht hervor, daß diejenige Selbsthemmung, die durch jene Behandlung bewirkt wird, nicht durch ein Inaktivieren rückgängig gemacht werden kann, weshalb die bei 37° erwärmte und dann inaktivierte Serumprobe nicht dasselbe Resultat gibt wie das nur inaktivierte, formolisierte Serum.

Oben wurde schon gesagt, daß die WS formolisierter *positiver* Sera, gleichgültig, ob diese Sera inaktiviert werden oder längere Zeit bei 37° aufbewahrt sind, zerstört wird. Hier (2., 10.) sehen wir nun, daß es auch in ähnlicher Weise mit denjenigen positiven WR geschieht, welche negative Sera in aktivem Zustande mitunter geben.

Formolisierte Globullinlösungen.

Aus den obigen Serumversuchen geht also deutlich hervor, daß die WS durch Formol vernichtet wird. Da hierbei so geringe Formolmengen wirksam sind, und da ja auch andere Substanzen in Seren mit Formol reagieren, schien es angezeigt, zu versuchen, die WS so rein wie möglich zu bekommen, um dann so viel besser die Formolwirkung auf sie studieren zu können.

Am einfachsten und gleichzeitig am besten schien es mir hierbei, die WS zusammen mit den Euglobulinen auszufällen. Dann bekommt man nämlich die WS quantitativ oder beinahe quantitativ in der Fällung. Die gegenteilige Auffassung, die man mitunter in der Literatur findet, hängt von einem Mißverständnis ab. Man setzt nämlich voraus, daß die Euglobuline in jedem Menschen Serum dieselbe Fällbarkeit besitzen, was jedoch gar nicht der Fall ist. Fällt man, wie ich es aus-

führte, mit Essigsäure und destilliertem Wasser, so sieht man, wie bei verschiedenen Seren verschiedene Mengen Essigsäure zugefügt werden müssen, um optimale Fällung zu erreichen. Nimmt man bei einem Serum zu wenig Essigsäure, so erhält man dabei weniger Fällung und weniger WS; bei zu großem Essigsäurezusatz geht es ebenso, und in beiden Fällen bleibt eine mehr oder weniger große Menge der WS in Lösung¹⁾. Diese Verhältnisse habe ich früher ausführlich behandelt (1).

Handelt es sich aber nicht darum, die WS quantitativ auszufällen, sondern nur eine ausreichende Menge davon zu erhalten, so gelingt dies in beinahe jedem positiven Serum mit 0,08 ccm 2proz. Essigsäure und 10 ccm destilliertem Wasser pro Kubikzentimeter Serum. In dieser Weise sind die hier benutzten WS-haltigen Globulinfällungen dargestellt. Dann werden sie in einer dem ursprünglichen Serumquantum entsprechenden Menge von physiologischer Kochsalzlösung, die auch 1 Prom. Soda enthält, gelöst. Hiermit sind sie, aktiv oder inaktiviert, je nach der Art der Untersuchung, für die WR fertig.

Die Formolisierung dieser Globulinlösungen bewirkt nun die folgenden Veränderungen in bezug auf die WR, wie die Tabelle IV aufweist.

Die beiden hier benutzten Globulinlösungen, welche aus *inaktivierten* positiven Seren stammten, waren ungefähr gleich stark wassermannpositiv (4., 8., 12., 20., 24., 28) und ohne Selbsthemmung, wie immer bei Globulinlösungen aus *inaktivierten* Seren. Durch Inaktivieren wurde ihre WR nicht beeinflusst (16., 32.).

Ebenso wie die Sera zeigten auch diese Globulinlösungen durch Formol Selbsthemmung, die beim Inaktivieren nicht verschwand (13., 29.). Bei den Seren trat im allgemeinen die Selbsthemmung stärker hervor, wenn die formolisierten Sera bei niedrigerer Temperatur aufbewahrt wurden. Hier wird die Selbsthemmung schon durch 0,0003 ccm Formol bei 8 oder 20° bewirkt, während sie bei 37° und beim Inaktivieren erst durch 0,002 ccm hervorgerufen wird. Der Unterschied der Formolwirkung in bezug auf Selbsthemmung bei verschiedenen Temperaturen ist demnach hier sehr bedeutend.

Die WS-vernichtende Wirkung des Formols kommt bei den Globulinlösungen viel reiner zum Ausdruck als bei den Seren. Dort war sie immer mit der Selbsthemmung erzeugenden Wirkung kombiniert, und sobald die Formoldosen so gering waren, daß sie keine Selbsthemmung mehr bewirkten, übten sie auch auf die WR keinen unzwei-

¹⁾ Um die Dialyse der Fällungen nach Fällung mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ zu vermeiden, habe ich die Methode mit Essigsäure und destilliertem Wasser für das Globulin- und WS-Ausfällen gewählt.

deutigen Einfluß aus. Hier dagegen, wo die WS hauptsächlich nur mit den Euglobulinen zusammen, aber von der großen Menge anderer Serumbestandteile befreit, vorkommt, und wo das Formol also im großen und ganzen nur mit der WS und mit den Euglobulinen reagieren kann, *hier erweisen sich so kleine Mengen Formol, daß sie keine Selbsthemmung hervorrufen, dennoch imstande, die WS zu vernichten.* Wir sehen in der Tabelle IV, wie z. B. 0,0003 ccm Formol (15., 31.), eine Dosis, die überhaupt keine Veränderung betreffs der WR bei Seren bewirkt, die WR dieser Globulinlösungen vollkommen vernichtet; dasselbe Ergebnis sieht man mitunter nach Zusatz von noch geringeren Formolmengen, wie später gezeigt werden wird.

Tabelle IV.

Die positiven Sera OP und LV wurden inaktiviert, die Globuline dann wie oben beschrieben ausgefällt und gelöst, worauf das Formol zugefügt wurde.

		WR mit folgenden Dosen				Kontrolle ohne Antigen 0,2 ccm
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	
1.	0,02 ccm Form., 1 ccm Glob.-Lösung OP,	+	+	+	(+)	+
2.	0,0005 24 Std. bei 8°	+	+	+	(-)	+
3.	0,0003 24 Std. bei 8°	+	+	+	-	+
4.	Kontr. Glob.-L. OP, 24 Std. bei 8°	+	+	+	(-)	-
5.	wie 1.	+	+	-	-	+
6.	" 2.	+	+	(-)	-	+
7.	" 3.	+	+	-	-	+
8.	" 4.	+	+	+	(-)	-
9.	" 1.	+	-	-	-	+
10.	" 2.	-	-	-	-	-
11.	" 3.	+	(+)	-	-	-
12.	" 4.	+	+	+	-	-
13.	" 1.	+	(-)	-	-	+
14.	" 2.	(-)	-	-	-	-
15.	" 3.	-	-	-	-	-
16.	" 4.	+	+	+	-	-
17.	" 1.	+	+	+	(+)	+
18.	" 2.	+	+	+	(+)	+
19.	" 3.	+	+	-	-	(+)
20.	" 4.	+	+	-	-	-
21.	" 17.	+	+	(-)	-	+
22.	" 18.	+	+	(-)	-	+
23.	" 19.	+	+	-	-	+
24.	" 20.	+	+	+	-	-
25.	" 17.	+	(-)	-	-	+
26.	" 18.	(-)	-	-	-	-
27.	" 19.	-	-	-	-	-
28.	" 20.	+	+	+	-	-
29.	" 17.	+	(+)	-	-	(+)
30.	" 18.	(+)	-	-	-	(-)
31.	" 19.	-	-	-	-	-
32.	" 20.	+	+	+	-	-

Positive Lumbalfüssigkeiten verhalten sich dem Formol gegenüber ebenso wie diese Globulinlösungen.

Bei verschiedenen Temperaturen erhält man, wie aus der Tabelle hervorgeht, auch verschiedene Ergebnisse in bezug auf die WR. Bei 37° in 24 Stunden ungefähr dasselbe Resultat (nicht vollkommen dasselbe) wie beim Inaktivieren; bei 20° während derselben Zeit vermag das Formol die WS nicht in demselben Umfange aufzuheben, und bei 8° bleibt die WS beinahe unberührt, doch wird sie auch hier, obgleich in sehr geringem Grade (3., 19.), zerstört. *Je niedriger die Temperatur, desto weniger wird demnach die WS vom Formol angegriffen.* Also gerade das Umgekehrte zu dem, was wir soeben in bezug auf die Selbsthemmung durch Formol bei den Globulinlösungen gesehen haben.

Wie bei den Seren, üben dieselben Formoldosen nicht bei allen Globulinlösungen dieselbe Wirkung aus, sondern sie wechselt mitunter. *Betreffs der Selbsthemmung* habe ich Globulinlösungen aus positiven, inaktiven Seren gehabt, bei denen 0,002 ccm Formol pro Kubikzentimeter Lösung nur eine schwache, und andere, wo schon 0,0003 ccm und sogar 0,0001 ccm starke Selbsthemmung hervorriefen; die vollkommene *Vernichtung der WS* wird in der einen Globulinlösung durch 0,0003 ccm pro Kubikzentimeter Lösung, in anderen, ebenso stark wassermannpositiven Lösungen, schon durch 0,0001 ccm pro Kubikzentimeter Lösung oder sogar noch weniger bewirkt. In einigen seltenen Fällen geht aber die Zerstörung der WS durch Formol nie bis zum vollkommenen Untergang der WS.

Fällt man anstatt (wie in Tabelle IV) positiver *inaktiver* positive *aktive* Sera, oder fällt man überhaupt aktive Sera, einerlei, ob sie positiv oder negativ sind, so bekommt man Globulinlösungen, die im allgemeinen nicht nur stark wassermannpositiv (bis auf 0,005 ccm), sondern oft auch selbsthemmend sind. [Der Unterschied zwischen Globulinlösungen aus aktiven *positiven* und aus aktiven *negativen* Seren ist bekanntlich derjenige, daß diese durch Inaktivieren sowohl die Selbsthemmung wie die positive Reaktion verlieren, jene aber nur die Selbsthemmung, während die positive Reaktion, obgleich abgeschwächt, bleibt (1)].

Werden nun solche aus aktiven Seren stammende Globulinlösungen formolisiert, so erhält man Resultate, die aus Tabelle V hervorgehen.

Hier sieht man, genau so wie nach Formolisierung von Globulinfällungen aus inaktivierten positiven Seren, daß das Formol sowohl eine Selbsthemmung erzeugende, wie eine WS-vernichtende Wirkung entfaltet, und daß jene bei den größeren, diese bei den kleineren Formoldosen am deutlichsten hervortritt. Daß bei verschiedenen Globulinlösungen von ungefähr derselben Wassermannstärke die Formoldosen für sowohl

die WS-zerstörende wie die Selbsthemmung erzeugende Wirkung verschieden sind, zeigt diese Tabelle ebenfalls.

Aus dem Verhältnis der Globulinlösungen F und J, welche beide aus aktiven *negativen* Seren stammen, ist es weiter ersichtlich, daß die positive Reaktion dieser Lösungen sich ganz in derselben Weise dem Formol gegenüber verhält wie wirklich wassermannpositive Lösungen aus *positiven* Seren.

Hier haben wir also eine Parallele zu der Formolwirkung auf solche negativen Sera, welche als aktive positiv reagieren. Auch dort wurde nämlich die positive Reaktion vom Formol mehr oder weniger zerstört (Tabelle III).

Aus der Tabelle V ist weiter ersichtlich, daß diejenige Selbsthemmung, die solche aus aktiven Seren erhaltenen Globulinlösungen sehr oft haben, auch durch kleine Formoldosen zusammen mit der WS zerstört wird (3., 4., 7., 8., 9., 13., 18., 19., 20.).

Tabelle V.

Die positiven Sera M und P und die negativen F und J wurden, alle aktiv, wie oben beschrieben, mit Essigsäure und destilliertem Wasser gefällt; die Fällungen wie gewöhnlich in 1 prom. sodahaltiger physiologischer NaCl-Lösung gelöst. Alle Proben wurden vor der Anstellung der WR 24 Stunden bei 37° aufbewahrt.

		WR mit folgenden Dosen				Kontrolle
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	0,2 ccm
1. 0,001	ccm Form., 1 ccm Glob.-L. M	+	+	+	—	+
2. 0,0005		+	—	—	—	(+)
3. 0,0003		—	—	—	—	—
4. Kontr.,	1 ccm Glob.-L. M	+	+	+	+	+
5. "	1 " " " inakt.	+	+	+	(—)	—
6. 0,001	ccm Form., 1 ccm Glob.-L. P	(+)	—	—	—	(—)
7. 0,0005		(—)	—	—	—	—
8. 0,0003		—	—	—	—	—
9. Kontr.,	1 ccm Glob.-L. P,	+	+	+	+	+
10. "	1 " " " inakt.	+	+	+	—	—
11. 0,001	ccm Form., 1 ccm Glob.-L. F	+	+	+	+	+
12. 0,0005		(+)	—	—	—	(+)
13. 0,0003		—	—	—	—	—
14. Kontr.,	1 ccm Glob.-L. F	+	+	+	+	+
15. "	1 " " " inakt.	—	—	—	—	—
17. 0,001	ccm Form., 1 ccm Glob.-L. J	+	+	—	—	+
18. 0,0005		(—)	—	—	—	—
19. 0,0003		—	—	—	—	—
20. Kontr.,	1 ccm Glob.-L. J	+	+	+	+	+
21. "	1 " " " inakt.	—	—	—	—	—

Auch hier wurden formolisierte Globulinproben bei verschiedenen Temperaturen, ganz wie in Tabelle IV, gehalten, und ebenso wie dort trat bei den niedrigeren Temperaturen mehr die Selbsthemmung erzeugende, die WS-zerstörende Wirkung weniger hervor als bei 37°

oder beim einfachen Inaktivieren. Ich habe es jedoch nicht für nötig erachtet, die ganze Tabelle dieser Versuche wiederzugeben, da sie dasselbe aussagt, was schon aus Tabelle IV bekannt ist.

Vergleich zwischen der Selbsthemmung erzeugenden Wirkung und der WS-zerstörenden des Formols.

Aus der Tabelle I fanden wir, wenn man das Formol unmittelbar vor dem Anstellen der WR einem Serum zusetzt, daß ein so formolisiertes Serum sich selbsthemmend erweist, während die positive Reaktion eines so behandelten positiven Serums unvermindert bestehen bleibt. Die Selbsthemmung erzeugende Wirkung des Formols scheint also schnell hervortreten, die Zerstörung der WS aber scheint wahrscheinlich sehr langsam vor sich zu gehen.

Um diese Unterschiede zwischen den beiden Formolwirkungen genauer zu verfolgen, sind Versuche nach folgender Anordnung ausgeführt worden:

Ein Serum oder eine in gewöhnlicher Weise bereitete Globulinlösung wurde mit je 1 ccm in 12 Röhrchen verteilt. Zu drei dieser Röhrchen wurden verschiedene Mengen Formol zugesetzt, um dann zusammen mit einem vierten, nicht formolisierten Röhrchen, das als Kontrolle dienen sollte, 24 Stunden bei 37° aufbewahrt zu werden. Die übrigen Röhrchen wurden in zwei Gruppen zu je vier ganz gleich wie die ersten vier Röhrchen behandelt, nur daß dies mit der ersten dieser Gruppen 22 Stunden, mit der zweiten 24 Stunden später gemacht wurde, worauf die WR gleichzeitig mit allen Proben ausgeführt wurde. Tabelle VI zeigt einen solchen Versuch.

Tabelle VI.

Globulinlösung aus aktivem Serum S bereit.

		WR mit folgenden Dosen				Kontrolle
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	0,2 ccm
1. 0,001	ccm Form. + 1 ccm	+	+	(+)	—	+
2. 0,0003	Glob.-L.,	(+)	—	—	—	—
3. 0,0001	24 Std. bei 37°	+	+	(+)	—	+
4. Kontr. 1 ccm	Glob.-L., 24 St. b. 37°	+	+	+	+	(+)
5. 0,001	ccm Form. + 1 ccm	+	+	+	(—)	+
6. 0,0003	Glob.-L.,	+	+	+	+	+
7. 0,0001	2 Std. bei 37°	+	+	+	+	+
8. Kontr. 1 ccm	Glob.-L., 2 St. b. 37°	+	+	+	+	(—)
9. 0,001	ccm Form. + 1 ccm	+	+	+	+	+
10. 0,0003	Glob.-L.,	+	+	+	+	+
11. 0,0001	unmittelbar vor der WR	+	+	+	+	(+)
12. Kontr. 1 ccm	Glob.-L.,	+	+	+	+	(—)

Dieser Versuch bestätigt vollkommen, was aus der Tabelle I wahrscheinlich schien, und in bezug auf das schnelle Auftreten der Selbsthemmung und das späte Erscheinen der WS-Zerstörung durch das Formol ist er typisch. Daß dagegen eine ungeheure Menge von Variationen in Einzelheiten bei solchen Versuchen vorkommen, ist selbstverständlich nach dem, was oben von dem Wechsel der Formolwirkung bei verschiedenen Seren und Globulinlösungen gesagt ist.

Indessen muß hier erwähnt werden, daß bei *aktiven* Seren und Globulinlösungen aus *aktiven* Seren die nicht formolisierten Kontrollen mitunter bei 37° während 24 Stunden Veränderungen — Verstärkung oder Abbleichen — eventuell vorkommender positiver WR oder Selbsthemmung aufweisen, die möglicherweise auf Infektion beruhen. Bei *inaktiven* Seren oder Globulinlösungen von *inaktiven* Seren sieht man solche Veränderungen nicht, wenn man sauber arbeitet, sondern diese Flüssigkeiten behalten in den Kontrollen nach 24 Stunden bei 37° immer ihre ursprüngliche Reaktion.

Es scheint nach Tabelle VI, als ob die Selbsthemmung während der Aufbewahrung bei 37° verstärkt wird (3., 7., 11.), aber auf der anderen Seite sieht man, wie sie bei passender Formoldosis bei 37° 24 Stunden ganz verschwindet (2., 6., 10.).

Um dem Leser einen besseren Überblick über diese beiden verschiedenen Formolwirkungen zu ermöglichen, gebe ich hier eine schematische Zusammenstellung dieser Verhältnisse.

Selbsthemmung	WS-Zerstörung
Kommt gleich	Entwickelt sich langsam
Kann bei passender Formoldosis wieder verschwinden, zusammen mit WR	
Tritt auch bei 8° hervor	Tritt kaum — sogar nicht bei längerem Aufbewahren — bei 8° hervor
Wird in Globulinlösungen bei steigender Temperatur und passenden Formoldosen durch die WS-Zerstörung überholt	Tritt vor allem bei 37° oder höheren Temperaturen (56° 1/2 Std.) hervor.

Nunmehr möchte ich das quantitative Verhältnis zwischen zugefügtem Formol und zerstörter WS untersuchen. Um dies zu erreichen, sind eine Reihe Versuche nach dem Schema ausgeführt worden, wie die Tabelle VII zeigt.

Hier sieht man, wie schon ein Gehalt von 0,000075 ccm Formol pro Kubikzentimeter Globulinlösung die Wassermannstärke von

Tabelle VII.

Das positive Serum N wurde als aktiv in gewöhnlicher Weise gefällt und die Fällung wie gewöhnlich gelöst. Die zugefügten Formolmengen standen mit ihren Serumportionen 24 Stunden bei 37°. Alle Proben wurden mit physiologischer NaCl-Lösung auf dasselbe Volumen aufgefüllt.

		WR mit folgenden Dosen							Kon- trolle 0,2 ccm
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,07 ccm	0,05 ccm	0,03 ccm	0,025 ccm	0,01 ccm	
1. 0,000 4	} Form. + 1 ccm Glob.-L.N	+	(+)	—	—	—	—	—	+
2. 0,000 3		+	(+)	—	—	—	—	—	+
3. 0,000 25		+	(—)	—	—	—	—	—	(—)
4. 0,000 2		(+)	—	—	—	—	—	—	—
5. 0,000 15		+	—	—	—	—	—	—	—
6. 0,000 1		+	+	+	(—)	—	—	—	—
7. 0,000 075		+	+	+	+	+	(+)	—	—
8. 0,000 050		+	+	+	+	+	+	+	(—)
9. 0,000 025		+	+	+	+	+	+	+	+
10. Kontrolle 1 ccm Glob.-L.N, aktiv		+	+	+	+	+	+	+	+
11. Kontrolle 1 ccm Glob.-L N, in- aktiviert . . .		+	+	+	+	+	+	—	—

0,01 bis 0,03 ccm herunterbringt, wie sie durch 0,0002 ccm Formol in die Nähe des Nullpunktes kommt, und wie bei höheren Formolzusätzen (schon 0,00025 ccm) die Selbsthemmung hervorbricht, wobei die gleichzeitig markierte positive WR selbstverständlich nur Selbsthemmung ist.

Ich habe nun versucht, die gefundenen Werte der WR graphisch aufzuzeichnen, und habe die Wassermannserumwerte (womit ich die reziproken Werte der gefundenen Dosen für positive Reaktion meine) auf die Ordinate, die benutzten Formoldosen auf die Abszisse aufgetragen.

In dieser Weise habe ich die folgende Kurve, die sich einer Hyperbel nähert (Abb. 1) er-

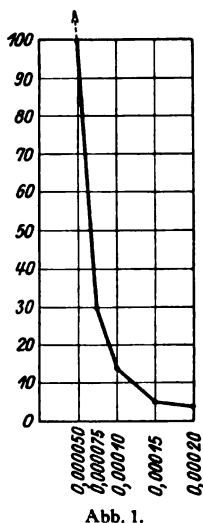


Abb. 1.

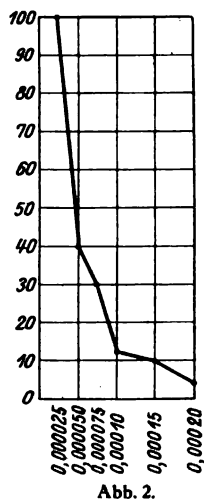


Abb. 2.

halten. Eine zweite Kurve (Abb. 2) aus einem Versuche mit einem anderen Serum ist auch beigelegt.

Wie schon gesagt, habe ich eine ganze Reihe solcher Versuche unternommen. Indessen eignen sich nicht alle Globulinlösungen hierfür. Teils deswegen, weil bei einigen Lösungen die kleinen Formoldosen keine WS-zerstörende Wirkung ausüben (da die Globulinfällungen aus verschiedenen Seren nicht gleich sind, enthalten wahrscheinlich einige Lösungen auch so viel andere mit Formol reagierende Substanzen, daß hierdurch die WS geschützt wird), oder weil diese Wirkung erst bei solchem Formolgehalt hervortritt, welcher in der Nähe der selbsthemmenden Dosen liegt; teils weil mitunter schon eine sehr kleine Formolmenge Selbsthemmung bewirkt. Als Beispiel jener Globulinlösungen möchte ich eine Globulinlösung erwähnen, wo erst durch Zusatz von 0,00025 ccm Formol pro Kubikzentimeter der Wassermannwert herunterging, während die Selbsthemmung bei einem Gehalt von 0,00035 einsetzte. Als Beispiel einer Globulinlösung, wo eine sehr unbedeutende Menge, die kaum größer als die kleinste WS-zerstörende Dosis ist, Selbsthemmung erzeugte, führe ich eine andere Globulinlösung an; hier gab nämlich schon 0,0001 ccm Formol pro Kubikzentimeter Lösung Selbsthemmung, und da erst 0,000050 ccm eine Abnahme der WS bewirkte, so wurde hier wie übrigens in allen solchen Fällen das Intervall zwischen der kleinsten WS-zerstörenden und der kleinsten selbsthemmenden Dosis zu klein, um das Aufzeichnen einer Kurve zu ermöglichen.

In allen den Fällen, in denen die graphische Darstellung möglich gewesen ist, hat es sich immer erwiesen, daß sich die Kurve der Hyperbel näherte, aber bei Lösungen aus verschiedenen Seren mit verschiedener Krümmung auch dort, wo die Lösungen unter sich gleich wassermannstark waren.

Hieraus geht aber auch hervor, was übrigens schon früher erwähnt worden ist, daß kein konstantes Verhältnis zwischen verbrauchter Formolmenge und zerstörter Menge von WS zu bestehen scheint.

Einwirkung einiger anderer Aldehyde auf die WR.

Von anderen Aldehyden habe ich nur Propylaldehyd und Isobutylaldehyd in bezug auf ihre Einwirkung auf die WR geprüft. Diese beiden Präparate wurden von Kahlbaum bezogen.

Um eine Verdunstung des Aldehyds möglichst zu verhindern, wurden die Röhrchen während der Versuche mit Kautschukstöpseln verschlossen. Selbstverständlich prüfte ich vor dem Hauptversuch, ob diese Aldehyde das hämolytische System beeinflussen. Dabei sah ich, daß jedenfalls Dosen von 0,01 ccm abwärts pro 1,5 ccm (Blut, Komplement) keine Wirkung ausübten.

Das Resultat des Hauptversuches ersieht man aus Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Globulinlösung aus aktivem positiven Serum hergestellt. Propylaldehyd wird mit Pr. ald. bezeichnet.

		WR mit folgenden Dosen				Kontrolle
		0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	0,2 ccm
1. 0,04	} ccm Pr. ald. + 1ccm Gl.-L., 24 Std. bei 37°	—	—	—	—	—
2. 0,01		+	+	—	—	—
3. 0,001		+	+	+	+	+
4. wie 1.	} inaktiviert gleich nach der Mischung	—	—	—	—	—
5. „ 2.		—	—	—	—	—
6. „ 3.		+	+	—	—	—
7. Kontrolle (ohne Pr. ald.)		+	+	+	(+)	—
8. „ „ „ inaktiviert		+	+	—	—	—

Wie ersichtlich, gibt Propylaldehyd ganz dasselbe Ergebnis wie das Formol, Selbsthemmung (3.) und bei höheren Dosen Zerstörung der WS (1., 2., 4., 5.). (In 4. bis 6. wurde die Mischung unmittelbar vor der Anstellung der WR gemacht.)

Bei Verwendung von Isopropylaldehyd bewirkte dieser Aldehyd in Dosis von 0,01 ccm zu 1 ccm Globulinlösung keine Veränderung der WR, und bei Zufügung größerer Menge trat eine Fällung ein, weshalb dieser Aldehyd in solchen Versuchen nicht verwendbar war.

Wie ist nun die Formolwirkung auf die WR zu deuten?

Wie ich anfangs erwähnte, bildete die Auffassung derer den Ausgangspunkt dieser Untersuchung, welche glauben, daß die WS ein abnormes Zerfallsprodukt der kranken Gewebe sei und dabei lediglich eine Aminosäure. Diese Auffassung wird vor allem durch einige Untersuchungen aus dem Muchschen Institut gestützt. Mahlo (5) z. B. behauptet, durch Aminosäuren nicht nur in vitro negative menschliche Sera in positive umgewandelt, sondern auch durch Injektionen solcher Säuren bei Kaninchen, deren Sera vorher negativ reagierten, positive Reaktion der Sera bewirkt zu haben.

Much und Schmidt (6), die allerdings die Mahlosche Angabe betreffs der Umwandlung negativer Sera in positive durch Aminosäurezusatz in vitro nicht bestätigen konnten, fanden jedoch in Übereinstimmung mit Mahlo, daß eine Injektion von Aminosäuren bei Kaninchen positive Serumreaktion hervorbringt. (Auf die Angaben der genannten Autoren, daß Lipode eine ähnliche Wirkung ausüben, habe ich hier keine Veranlassung, einzugehen.)

Kürzlich hat aber *Bachman* (7) diese aufsehenerregenden Untersuchungen nachgeprüft. Er findet, daß es bei *einigen* negativen Seren gelingt, durch Aminosäurezusatz (besonders von Glykokoll) die WR der Sera mehr oder weniger positiv zu machen, deutet aber dies (beim Glykokollzusatz) als Folge der durch die Säure veränderten Wasserstoffionenkonzentration, wodurch das Komplement inaktiviert werden würde. Diese Deutung trifft doch jedenfalls in denjenigen Versuchen nicht zu, wo nur ganz geringe Mengen Glykokoll, z. B. 1 : 1000000, die positive Reaktion bewirkten. Ich verweise in diesem Punkte auf die Tabelle IX, die eine ganze Reihe Hämolyseversuche mit Glykokollzusätzen enthält, in denen die Hämolyse durch das Glykokoll in großer Konzentration nicht aufgehoben wurde.

Durch parenterale Aminosäureinjektionen ist es *Bachman* im Gegensatz zu den eben erwähnten Forschern gar nicht gelungen, positive Reaktion in Seren zu erzielen.

Um mir eine eigene Auffassung in dieser wichtigen Frage zu verschaffen, habe ich die erwähnten Versuche von *Mahlo*, *Much* und *Schmidt* und von *Bachman* wiederholt. Meine hierbei erhaltenen Ergebnisse stimmen in der Hauptsache mit den *Bachmanschen* überein. In einigen — bei weitem nicht in allen — negativen Seren gelang es demnach auch mir, durch Aminosäuren positive Reaktion in vitro hervorzurufen. Ich habe dies sowohl mit Glykokoll, wie mit Alanin, Tyrosin und Leucin, aber nur mit großen Dosen erhalten (Kontrollproben zeigten, daß die benutzten Säureverdünnungen allein nicht die Hämolyse beeinflussten). Mitunter wurden die Sera durch die Aminosäurezugaben auch selbsthemmend.

Nach parenteralen Injektionen habe ich folgende Ergebnisse bekommen: Erstens injizierte ich große Mengen von ungefähr je 0,1 g Tyrosin, Glykokoll, Alanin und Asparaginsäure (alles gelöst und aufgeschwemmt in 5 ccm Wasser) subkutan bei einem Kaninchen. 4½ Stunden später zeigte das Blut eine *geringe* positive WR in Dosis von 0,1 ccm, aber gar nichts in 0,2 ccm. So verhielt sich auch die Probe, die 24 Stunden nach der Injektion genommen wurde. Später waren alle Proben glatt negativ. Dann wiederholte ich den Versuch von *Much* und *Schmidt* unter genauer Innehaltung der beschriebenen Versuchsanordnung, wonach diese Forscher 3 ccm 1 : 500 verdünnter Leucinlösung in die Vene einspritzten. Nach 4 Stunden sahen sie dabei stark positive Reaktion bei Neigung zur Selbsthemmung. „Auch nach 2 × 24 Stunden war die Probe noch positiv, aber bereits schwächer als nach 24 Stunden.“ Ich sah jedoch hierbei nur eine unbedeutende Hemmung in Dosis von 0,1 ccm (*nicht von 0,2 ccm*) in den Proben von 24 und 48 Stunden; im übrigen nichts von einer positiven WR.

Aus den Ergebnissen von *Bachman* und meinen eigenen Befunden scheint mir kein Grund zu der Behauptung vorzuliegen, daß die freien Aminosäuren eine Rolle für die *wahre* WR spielen, um so mehr, als eine ganze Reihe von Eingriffen (Schütteln, Ätherbehandlung, Verdünnung mit destilliertem Wasser, Bakterienzumischung usw.) eine solche Veränderung negativer Sera bewirken, die allerdings der positiven WR ähnlich, aber sicher mit dieser nicht identisch ist.

Der Beweis, daß weder freie, noch an das Molekül gebundene, aber *endständige* Aminosäuren die WS bilden, ist indessen nun mit meinen schon beschriebenen Formolversuchen geliefert. Bestände die WS nämlich aus solchen Säuren, so müßte sie auch in derselben Weise wie diese Aminosäuren mit Formol reagieren, d. h. eine auch bei Zimmertemperatur schnell verlaufende, reversible Reaktion geben, wie wir sie aus der *Sörensen*schen Titration mit Formol auf Aminosäuren gut kennen.

Aber so verläuft die Formolreaktion mit der WS nicht, sondern, wie schon hervorgehoben worden ist, geht diese Reaktion nur bei höheren Temperaturen, z. B. 56°, schnell, bei Zimmertemperatur dagegen sehr langsam vor sich.

Durch Zusatz von Glykokoll zu Globulinlösungen, die gleichzeitig formolisiert wurden, habe ich beim Vergleich zwischen solchen Globulinlösungen und Kontrollösungen ohne Glykokoll zu entscheiden versucht, ob auch die Formolreaktion mit der WS reversibel ist.

Dies ist mir aber nicht gelungen. Die schon oben erwähnte Eigenschaft des Glykokolls, mitunter den Seren nicht nur eine positive WR vorzutauschen, sondern auch Selbsthemmung zu geben, macht solche Versuche sehr unsicher. Aus einer langen Reihe solcher Versuche habe ich jedoch den Eindruck bekommen, daß jedenfalls ein Zusatz von Glykokoll zu formolisierten wassermannpositiven Seren und Globulinlösungen die Zerstörung der WS verzögert.

Indessen bewirkt ja das Formol auch eine andere Veränderung von Seren und Globulinlösungen als die WS-Vertilgung, nämlich die Selbsthemmung.

Daß diese nicht auf einer durch Formol direkt hervorgerufenen Komplementinaktivierung beruht, ist schon oben hervorgehoben. Eine solche Komplementinaktivierung kommt nämlich unter den hier angewandten Versuchsbedingungen erst bei größeren Formoldosen vor, was besonders hervortritt, wenn man die komplementinaktivierenden Dosen bei dem hämolytischen System mit den Selbsthemmung erzeugenden bei den Globulinlösungen vergleicht, wo ganz minimale Formoldosen wirksam sind (s. z. B. die Tabellen I und IV). *Die Selbsthemmung durch Formol hängt deswegen sicher von den durch das Formol hervorgerufenen Veränderungen der Sera oder der Globulinlösungen ab.*

Die Selbsthemmung tritt, wie schon früher gesagt, sehr schnell auch bei Zimmertemperatur ein. Ob sie vielleicht eine Aminosäurereaktion ist? Darauf kann ich vorerst noch nicht antworten, sondern muß dies einer späteren Untersuchung vorbehalten.

Einfluß des Formols auf einige Antikörper.

Nachdem nun die Einwirkung des Formols auf die WS untersucht war, ging ich zum Vergleich zur Prüfung der Formolwirkung auf Antikörper über.

In der Literatur findet sich schon eine Arbeit, die sich hiermit beschäftigt, nämlich von *Eisler* und *Löwenstein* (8), worin diese Forscher in Anlehnung an ihre Untersuchung über die Formolwirkung auf einige Toxine den Effekt von Formol auf Antisera prüften. Hierbei ließen sie das Formol in einer Konzentration von im allgemeinen 5 bis 2 Prom. auf Antisera längere Zeit (3, 5, 10 bis 35 Tage) teils bei 30°, teils im Eisschranke einwirken. Mitunter wurden auch die formolisierten Sera gleichzeitig mit einer Nernstlampe beleuchtet. Die hauptsächlichsten Ergebnisse der Arbeit sind, daß die lytischen, präzipitierenden und agglutinierenden Antikörper der Sera durch Formol stark reduziert werden, während die Antitoxine in erheblich geringerem Grade, in einigen Seren fast gar nicht zerstört wurden. Daß der Untergang der Antikörper durch Formol sehr langsam vor sich geht, aber durch Steigerung der Temperatur befördert wird, ist hervorgehoben, ebenso daß die Verhältnisse in dieser Hinsicht von einem Serum zum anderen erheblich wechseln.

Die von *Eisler* und *Löwenstein* geprüften Sera waren alle *Pferdesera* mit einer Ausnahme, einem hammelhämolytischen Kaninchenserum.

Alle meine Versuche sind dagegen mit *Kaninchenseris* gemacht worden.

Betreffs der Formolwirkung auf *Hämolsine* sind von mir sowohl hammelhämolytische wie ochsenhämolytische untersucht worden, und von den hammelhämolytischen nicht nur die gewöhnlichen, durch Hammelblutinjektionen, sondern auch durch Pferdeniereninjektionen erhaltenen (also sowohl homo- wie heterogenetischen) hammelhämolytischen Sera.

Abgesehen davon, daß verschiedene Sera sich in *quantitativer* Beziehung verschieden zum Formol verhalten, ganz so wie wir es bei der WR sahen, so ist doch das Resultat der Formoleinwirkung auf alle die geprüften hämolytischen Sera prinzipiell dasselbe. Als Beispiel kann die Tabelle IX dienen, eine der letzten meiner Versuchsreihe, wo ich also sozusagen meine gesammelten Erfahrungen aus einer großen Serie ähnlicher Versuche in einem Versuche zusammengestellt habe.

In allen Hämolysinversuchen werden folgende Bezeichnungen benutzt:

vollständige Hämolyse $\times \times \times \times$,
 beinahe vollständige Hämolyse $\times \times \times (\times)$,
 sehr starke (ungefähr 50proz.) Hämolyse $\times \times \times$,
 starke Hämolyse $\times \times (\times)$,
 kräftige Hämolyse $\times \times$,
 unbedeutende Hämolyse $\times$,
 Spur von Hämolyse $(\times)$,
 Keine Hämolyse 0.

Erstens ist aus dieser Tabelle IX ersichtlich, daß das Formol auf die Hämolyse zerstörend wirkt, ganz so wie wir es bei der WS gesehen haben.

Vergleicht man dann den Grad der Zerstörung bei verschiedenen Temperaturen, so findet man, daß die stärkste Wirkung hier nach 24 Stunden bei 37° hervortritt, und daß sie entschieden stärker ist als nach einer halben Stunde bei 56° (1. bis 4. und 13. bis 16.). Bei niedrigerer Temperatur nimmt sie schnell ab (vgl. 1. bis 4. mit 9. bis 12.).

In besonderen Versuchen habe ich dann genauer geprüft, was die Temperaturdifferenzen für die Vernichtung von Hämolyseinen bedeuten, und möchte hierüber mitteilen, daß bei einem 3300wertigen Serum, wo 0,004 ccm Formol pro Kubikzentimeter Serum benutzt wurden und die Wirkungsdauer des Formols überall 24 Stunden war, der Hämolysinwert bei 8° gar nicht herunterging, während er bei 18° bis 1000 und bei 37° sogar bis 50 reduziert wurde.

Ich habe in dieser Tabelle auch eine Reihe von Röhrchen mit Glykokollzusätzen angeführt, um den Einfluß einer Aminosäure (des Glykokolls) auf die Formolwirkung nachzuweisen.

Bei ähnlichen Versuchen, wo ich die Einwirkung des Glykokolls auf die Zerstörung der WS durch Formol prüfen wollte, war es, wie oben gesagt, nicht möglich, ein sicheres Urteil zu erhalten, weil das Glykokoll eine positive WR mitunter vortäuscht. Hier dagegen sehen wir vollkommen deutlich, daß das Glykokoll die Zerstörung des Hämolyseins beträchtlich vermindert, und dies sowohl bei 37° während 24 Stunden, wie bei 56° nach einer halben Stunde (1. bis 4. und 5. bis 8.; 13. bis 16. und 17. bis 23. in der Tabelle IX)¹⁾. In Versuchen, wo ich das Glykokoll erst zufügte, nachdem das Formol 24 Stunden bei 37° Gelegenheit gehabt hatte, auf das Hämolysin einzuwirken, erwies sich aber der Glykokollzusatz ohne jede Wirkung. Die Zerstörung rückgängig zu machen, vermag also das Glykokoll nicht, und eine reversible Reaktion ist also kaum die Verbindung zwischen Formol

¹⁾ Daß das Glykokoll allein in den benutzten Dosen ohne Einwirkung auf die Hämolyse war, zeigen die Kontrollröhrchen 27 bis 29. Befördernd wirkt das Glykokoll allein überhaupt nicht auf die Hämolyse, im Gegenteil aufhebend, aber dann bei größeren Dosen.

Tabelle IX.

Jedes von den untenstehenden Röhren enthält 0,5 ccm hammelhämolysisches Kaninchenserum und wurde mit NaCl je nach der Art der Probe mit Formollösung oder Glykokollösung bis auf 0,8 ccm aufgefüllt. Jede Probe umfaßte vier Röhren. Waren sie mit Formol versetzt, so enthält das erste 0,0003 ccm und die übrigen bzw. 0,001, 0,0015 und 0,002 ccm vom 40 proz. Formol; waren es Glykokollösungen, so waren die Röhren mit je 0,1 ccm Glykokollösung (entweder 1:5 oder 1:10) beschickt. Alle Röhren wurden gleichzeitig auf ihren Hämolysegehalt ausstrahlt, weshalb diejenigen Röhren, welche nur $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° erwärmt wurden, erst unmittelbar vor der Titrierung fertiggestellt wurden. Glyk. bedeutet hier wie früher eine Glykokollösung.

	0,03 ccm	0,01 ccm	0,008 ccm	0,006 ccm	0,004 ccm	0,002 ccm
1 } Serum und Form., 24 Std. bei 37° .	x x x (x)	x x x	x x (x)	x x	x x	0
2 } "	x x x (x)	x x x	x x	0	0	0
3 } "	x x x	0	0	0	0	0
4 } "	0	0	0	0	0	0
5 } Serum, Form., Glyk. 1:5,	x x x	x x x	x x (x)	x x (x)	x x	0
6 } 24 Std. bei 37° .	x x x	x x x	x x	x x	x x	0
7 } "	x x x	x x x	0	0	0	0
8 } "	x x	0	0	0	0	0
9 } Serum und Form., 24 Std. bei 18° .	x x x	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x
10 } "	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x x	0
11 } "	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x x	0
12 } "	x x x	x x (x)	x x	x x (x)	(x)	0
13 } Serum und Form., $\frac{1}{2}$ Std. bei 56° .	x x x	x x x	x x x	x x x	x x	0
14 } "	x x x	x x x	x x x	x x x	x x	0
15 } "	x x x	x x x	x x x	x x x	0	0
16 } "	x x (x)	x x x	x x (x)	0	0	0
17 } Serum, Form., Glyk. 1:5,	x x x	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x
18 } $\frac{1}{2}$ Std. bei 56° .	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x x	0
19 } "	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x x	0
20 } "	x x x	x x x	x x x	x x	0	0
21 } Serum, Form., Glyk. 1:10	x x x	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x
22 } $\frac{1}{2}$ Std. bei 56° .	x x x	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x
23 } "	x x x	x x x	x x x	x x x	x x	0
24 } "	x x x	x x x	x x x	x x x	0	0
25 } Kontr. 0,5 Serum + 0,3 NaCl, 24 Std. 37°	x x x	x x x	x x x	x x x	x x (x)	x
26 } 0,5 + 0,3 " $\frac{1}{2}$ " 56°	x x x	x x x	x x x	x x x	x x	0
27 } Ser. + Glyk. 1:5 + " 24 " 37°	x x x	x x x	x x x	x x x	x x	0
28 } " + " 1:5 + " $\frac{1}{2}$ " 56°	x x x	x x x	x x x	x x x	x x	0
29 } " + " 1:10 + " $\frac{1}{2}$ " 56°	x x x	x x x	x x x	x x x	0	0

und Hämolsin. (Ex analogia ist dasselbe auch betreffs der Verbindung zwischen Formol und WS anzunehmen.)

Die Ergebnisse dieser Tabelle habe ich auch graphisch in den beigelegten Kurven aufgezeichnet, um einen leichteren Überblick zu ermöglichen. Die Hämolsenwerte sind auf die Ordinaten, die Formoldosen auf die Abszissen aufgetragen.

Bei der Prüfung der Formolwirkung auf die WS ergab sich, wie oben erwähnt worden ist, daß es vorteilhaft war, die WS zusammen mit den Globulinen auszufällen,

die so erhaltene Fällung in einer Salz-Sodalösung zu lösen, um dann das Formol hier einwirken zu lassen. Dabei trat die WS-zerstörende Wirkung des Formols viel deutlicher hervor als bei Formolbehandlung der (wassermannpositiven) Sera. In der Hoffnung, auch bei den Antikörpern bessere Resultate mit Formolisierung von ausgefällten als von den in den Seren noch befindlichen Antikörpern zu erhalten, fällte ich die Hämolsine in derselben Weise wie es beim Ausfällen der WS zusammen mit den Globulinen aus den Menschenserem schon beschrieben ist (nur daß für das Ausfällen von Globulinen aus Kaninchenserem die doppelte Menge destillierten Wassers pro Kubikzentimeter Serum im Vergleich mit dem Menschenserum erforderlich ist), löste, wie früher gesagt, die Fällung

in Salz- und Sodalösung und fügte sodann das Formol hinzu. Es erwies sich hierbei, daß, wenn man die so erhaltenen Ergebnisse mit denjenigen, die man durch Formolbehandlung von hämolytischen Seren bekam, verglich, der einzige Unterschied darin bestand, daß in jenem Falle kleinere Formolmengen benutzt werden mußten als in diesem. Nachdem dies festgestellt war, habe ich immer, da das Resultat in beiden Fällen prinzipiell dasselbe war, nur die Formolwirkung bei den Seren geprüft, da dies ja viel einfacher war, als zuerst die Antikörper auszufällen, um später ihr Verhalten dem Formol gegenüber zu untersuchen.

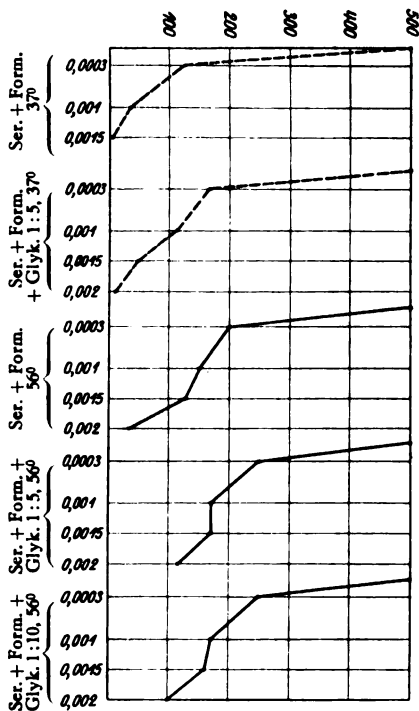


Abb. 3.

Bei den *Präzipitinen* und *Agglutininen* gab die Formolisierung dieselben Ergebnisse wie bei Hämolysinen, weshalb ich darauf verzichten kann, diese Ergebnisse näher zu beschreiben.

Wirkliche *anaphylaktische Antikörper* sind von mir betreffs ihrer Empfindlichkeit dem Formol gegenüber nicht untersucht worden. Es gibt aber ein Phänomen, das ich als *umgekehrte Anaphylaxie* bezeichnet habe (11), und das darin besteht, daß gewisse Antikörper (die sogenannten heterogenetischen) beim Meerschweinchen einen anaphylaktischen Symptomkomplex durch Bindung mit im Meerschweinchen befindlichen Antigen hervorrufen. Diese *anaphylaktischen Antikörper*, die in hammelhämolytischen (homo- und heterogenetischen) Kaninchenserum vorkommen, sind nun mit Formol behandelt worden und reagierten dabei genau so wie die übrigen hier schon erwähnten Antikörper, d. h. sie wurden gleichzeitig mit den Hammelhämolysinen durch dieselben Formoldosen zerstört.

Unter den Antitoxinen ist nur das Tetanusantitoxin in bezug auf sein Verhalten gegen Formol geprüft worden. Da das Tetanustoxin, wie Eisler und Löwenstein gezeigt haben, sehr empfindlich für Formol ist, und da das hier benutzte Toxin, das ich ebenso wie das Antitoxin der Liebenswürdigkeit des Direktors Dr. Th. Madsens, Statens Seruminstitut, Kopenhagen, verdanke, ganz besonders formolempfindlich war, wie einige Vorversuche lehrten, mischte ich nicht das formolisierte Antitoxin mit dem Toxin, um jede Berührung zwischen Formol und Toxin zu vermeiden, sondern injizierte den einen Tag das formolisierte Antitoxin und den folgenden das Toxin in wechselnden Dosen bei einer Reihe von Mäusen. Die hierbei benutzten Formolkonzentrationen variierten von 0,001 bis 0,01 cem Formol auf 1 cem antitoxinhaltigen Serums. Nach dem Formolzusatz und vor der Verwendung waren die Serumproben während 24 Stunden bei 37° aufbewahrt. Es erwies sich nun, daß eine solche Formolbehandlung das Antitoxin gar nicht schwächte, sondern die Schutzkraft des Serums blieb unverändert, und doch ist die Formolmenge 0,01:1 viel höher als diejenige, wodurch die anderen Antikörper vollkommen zerstört wurden. Beim Zusatz von 0,02 cem Formol wurde das Serum so zähflüssig, daß ich nicht mit meinen Prüfungen weiter ging als oben gesagt ist¹⁾.

Tierversuch.

Um zu prüfen, ob nicht das Formol auch in vivo eine zerstörende Wirkung auf Antikörper hätte, injizierte ich einem hammelhämolytin-haltigen Kaninchen intravenös Formol.

¹⁾ Die Prüfung der Formolwirkung bei den anaphylaktischen Antikörpern wurde unter meiner Leitung vom Assistenten Dr. Alfr. Flaux und bei dem Tetanusantitoxin von der Assistentin Dr. G. Ivarsson ausgeführt.

Aus der Tabelle IX sieht man, daß 0,0015 ccm Formol genügt, um in 1 ccm hämolytischem, 500wertigem Kaninchenserum beinahe alles Hämolsin zu vertilgen (Tabelle IX, 3.). Um dieselbe Wirkung auf 100 ccm gleich starken Kaninchensерums auszuüben, braucht man also 0,15 ccm Formol.

Bei einem Kaninchen, Gewicht 2500 g, das vor einem Monat Hammelblutinjektionen erhalten hatte und dessen Serum jetzt beinahe konstant 500wertig war, machte ich nun eine Formolinjektion. Das Formol war in 10 ccm Serum von demselben Kaninchen verdünnt.

Da ein Tier dieses Gewichtes der gewöhnlichen Berechnung gemäß ungefähr 100 ccm Serum enthalten soll, würde die oben angegebene Formolmenge genügen, aber um eine möglichst kräftige Einwirkung auf die Hämolsine auszuüben, setzte ich die doppelte Menge Formol, also 0,3 ccm dem Kaninchenserum zu. Injiziert man sehr langsam (das ganze Quantum in 5 Minuten), so verträgt das Tier die Injektion ganz gut, zeigt nur ein wenig Unruhe während des Injizierens und von der Schnauze tropft ödematöse Flüssigkeit, aber nach Beendigung der Injektion scheint es wieder ganz gesund.

Das Resultat entsprach indessen gar nicht meinen Erwartungen, indem *überhaupt keine Veränderung im Hämolsingehalt des Serums durch die Injektion während einer Beobachtungszeit von 48 Stunden aufgewiesen werden konnte.*

Besprechung der Ergebnisse.

Der Formaldehyd reagiert, wie schon mehrmals gesagt, mit wassermannpositiven Flüssigkeiten in zweifacher Weise, teils WS-zerstörend, teils Selbsthemmung bewirkend. Diese Reaktion geht auch bei Zimmertemperatur schnell, jene dagegen bei solcher Temperatur sehr langsam, erst bei höherer Temperatur schnell vor sich.

Betreffs der die Selbsthemmung erzeugenden Reaktion des Formols habe ich nichts dem hinzuzufügen, was ich schon früher darüber gesagt habe.

Die WS-zerstörende Reaktion möchte ich dagegen auch in diesem Zusammenhange noch besprechen, da wir ja eine ganz analoge Zerstörung aller Antikörper mit Ausnahme der Antitoxine durch Formol gesehen haben.

Das Formol ist allerdings eine vielseitig reagierende Substanz. Da man aber ein so vollkommen identisches Verhalten der WS und der betreffenden Antikörper dem Formol gegenüber sieht, ist es nicht zu vermeiden, daß man hierin einen Fingerzeig sieht, daß in beiden Fällen sich identische Reaktionen abspielen, und daß demnach sowohl die WS wie die betreffenden Antikörper vom chemischen Gesichtspunkte gleichartige Radikale besitzen, welche von solcher Bedeutung

für die spezifische Funktion dieser Körper sind, daß ihre Zerstörung oder Bindung die genannte Funktion aufhebt.

Vielleicht könnte man doch daran denken, daß es nur eine Veränderung der kolloidalen Eigenschaften durch das Formalin wäre. Das scheint aber nicht der Fall zu sein. Zwar ist es wahr, daß das Formol eine Veränderung der kolloidalen Eigenschaften des Serums bewirkt, aber sie tritt erst bei größeren Dosen als den hier benutzten deutlich hervor, und parallel mit einer solchen Veränderung zeigt sich eben das Gegenteil zur WS-Zerstörung, nämlich Selbsthemmung. Und bei den hämolytischen Seren können wir vielmehr tiefgehende Veränderungen der kolloidalen Eigenschaften durch Alkoholfällung als durch Zusatz von den hier in Frage kommenden winzigen Formolmengen bewirken, ohne daß dadurch die Hämolysine zerstört werden.

Nimmt man deswegen an, daß die WS- und die antikörperzerstörende Wirkung des Formols von stereochemischer Natur ist, so ist nur eins sicher, nämlich daß die mit dem Formol reagierenden Radikale weder freien noch endständigen Aminosäuren gehören, dies wird durch den langsamen Reaktionsverlauf bewiesen. In bezug auf die chemische Natur dieser Radikale kommt man ja durch die Formolreaktion nicht weiter.

Die Reaktion scheint nicht reversibler Natur zu sein. Zwar wird durch Glykokollzusatz die Hämolysinzerstörung des Formols sicher und die WS-Zerstörung wahrscheinlich verzögert, aber rückgängig kann diese Zerstörung doch nicht durch Glykokoll gemacht werden.

Betreffs der anfangs gestellten Frage, ob die WS ein Antikörper oder ein abnormes Umsetzungsprodukt sei, haben meine Untersuchungen mich zu folgender Auffassung geführt.

Es ist allerdings eine merkwürdige Tatsache, daß alle Antigene bekanntlich formolresistent (sogar für ganz bedeutende Formolkonzentrationen) sind, d. h. daß sie trotz Formolbehandlung ihre antigenen Eigenschaften behalten¹⁾, während alle Antikörper — nur die Antitoxine ausgenommen — formolempfindlich sind, und daß die WS sich an die Antikörper in dieser Beziehung anschließt. Dies könnte eine Veranlassung sein, auch die WS als einen Antikörper aufzufassen. Aber ich glaube, daß dies vielmehr ein Eigentümliches Zusammenreffen ist und daß man hieraus keine Schlußfolgerung betreffs der Natur der WS ziehen kann. In Anbetracht dessen, daß viele negative

¹⁾ *Eisler* und *Löwenstein* teilen allerdings mit, daß die Toxine ihre *Toxizität* durch Formolbehandlung einbüßen; das bedeutet aber nicht, daß damit auch ihre *antigenen* Eigenschaften verloren gegangen sind. Im Gegenteil werden diese durch das Formol gar nicht geschwächt, was von *Löwenstein* (9) für das Tetanustoxin und von *Ramon* (10) für das Diphtherietoxin bewiesen worden ist.

Sera in aktivem Zustande und alle Globulinlösungen aus aktiven Seren, einerlei ob sie aus positiven oder negativen Seren stammen, als *aktiv* positiv reagieren und daß diese positive Reaktion dem Formol gegenüber sich vollkommen identisch mit der wahren WR verhält, scheint es mir weiter wahrscheinlich, daß diejenige Substanz, auf welcher die WR beruht, also die WS, nicht nur in den wirklich positiven, sondern auch in allen menschlichen Seren vorkommt.

Das Verhalten, daß diese Substanz nur in den wirklich positiven Seren thermostabil ist, kann dann entweder dadurch erklärt werden, daß in normalen Seren ein anderer, die WS neutralisierender Körper sich befindet, der sich zudem beim Inaktivieren mit der WS verbindet und sie wirkungslos macht, und daß dieser Körper infolge der syphilitischen Infektion wegfällt. (Daß dieser Körper nicht, wie *Friedmann* einst annahm, aus Serumalbuminen besteht, ist einfach daraus deutlich, daß die Thermolabilität der WR ebenso auffallend in Globulinlösungen aus positiven Seren hervortritt, wo Albumine, wenn überhaupt, nur spurenweise vorkommen, wie in Seren.) Oder daß eine neue Substanz in den syphilitischen positiven Seren entsteht, die wie z. B. ein Schutzkolloid wirkt und die Thermostabilität bewirkt.

Welche von diesen beiden Möglichkeiten zu Recht besteht, kann ich jedoch noch nicht sagen.

Schlußfolgerungen.

1. Formol wirkt auf wassermannpositive Sera in der Weise, daß teils Selbsthemmung erzeugt, teils die positive WR vernichtet wird.

2. Diese zweifache Wirkung tritt noch besser und schärfer bei Globulinfällungen positiver Sera und in positiven Lumbalflüssigkeiten hervor.

3. Wassermann-negative Sera, welche als aktiv positiv reagieren, und Globulinfällungen aus aktiven negativen Seren verhalten sich in aktivem Zustande dem Formol gegenüber ebenso.

4. Die Selbsthemmung durch Formol entwickelt sich sehr schnell auch bei 8°.

5. Die WR-zerstörende Wirkung des Formols verläuft dagegen sehr langsam, sogar bei 37°, und erst bei Inaktivierungstemperatur schnell.

6. Wegen der Langsamkeit der WR-Zerstörung kann diese Reaktion nicht von freien oder endständigen Aminosäuren abhängen und die WS also nicht aus solchen bestehen.

7. Antikörper — Antitoxine nur ausgenommen — verhalten sich dem Formol gegenüber vollkommen so wie die WS.

8. Die Reaktion Formolantikörper und wahrscheinlich Formol-WS ist keine reversible Reaktion, denn es ist nicht möglich, sie durch z. B. Aminosäuren rückgängig zu machen.

Literatur.

- 1) *Forssman*, Zur Chemie der WR I und II, diese Zeitschr. **121** und **124**.
- 2) *Dold*, Aufhebung der Reaktionsfähigkeit luetischer Sera durch Formaldehyd, Deutsch. med. Wochenschr. 1921. — 3) *Armand-Deville* und *Launoy*, Etudes s. l. stabilité des glob. rouges des mammifères, du mouton en partic. par. las solut. très diluées de formol, Ann. de l'inst. Past. 1911. — 4) *Eisler*, Über den Einfluß des Formalins auf rote Blutkörperchen, Centralbl. f. Bakt., Orig. **65**. — 5) *Mahlo*, zitiert nach 6) und 7). — 6) *Much* und *Schmidt*, Über Lipoidantikörper und WR, Deutsch. med. Wochenschr. 1921. — 7) *Bachman*, Beziehungen zwischen Organabbauprodukten und WR, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **33**. — 8) *Eisler* und *Löwenstein*, Über den Einfluß des Formalins auf Bluteerum, Centralbl. f. Bakt., Orig. **63**. — 9) *Löwenstein*, Über Immunisierung mit atoxischen Toxinen, Deutsch. med. Wochenschr. 1921. — 10) *Ramon*, Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtériques, Ann. de l'inst. Past. 1924. — 11) *Forssman* und *Fex*, Über antianaph. Erscheinungen usw., diese Zeitschr. **66**, 355.

Die Beziehung des Kolloidalzustandes der Gewebe für den Ablauf des Wachstums.

Von

Max Rubner (Berlin).

(Eingegangen am 3. April 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Kaum eine Erscheinung ist für den Biologen interessanter und anziehender als das Wachstum, es bietet in gleicher Weise dem Morphologen wie Physiologen eine Gelegenheit für seine Arbeiten¹⁾. Im Verhältnis zu der großen Bedeutung, die es im allgemeinen Geschehen hat, findet gerade dies Studium für die Vorgänge bei den höheren Tieren oder den Warmblütern überhaupt nicht die Beachtung, die man dem schenken sollte, was rings um uns in der Natur vorgeht. Wohin man seine Blicke lenkt, finden sich wohl Anfänge des Erkennens, einzelne regellos zerstreute Beobachtungen, die zusammenhanglos und deshalb unbeachtet durch viele Jahrzehnte liegen geblieben sind, da die Fäden, die innerlich sie zu Einheitlichem verknüpfen, nicht gefunden wurden.

Vor einer Reihe von Jahren habe ich der Akademie der Wissenschaften zuerst Mitteilung gemacht über merkwürdige zahlenmäßige Zusammenhänge, die zwischen den Wachstumsverhältnissen der näher bekannten Säuger bestehen, und über Energieverbrauch in den einzelnen Entwicklungsperioden, über die Gleichartigkeit der Ordnung im ganzen Stoffwechsel, über intrauterine und extrauterine Vorgänge.

In nachstehendem beabsichtige ich auf eine andere Seite des Entwicklungsproblems einzugehen; auf das uns unerklärliche Geschehen, daß überall das Wachstum mit einer urwüchsigen Kraft einsetzt, den Organismus formt und umgestaltet, und dann, als wenn sich stürmische Wogen glätten, den ausgewachsenen Organismus seinem ruhigeren Schicksal zu überlassen.

¹⁾ Siehe auch Sitzungsber. d. preuß. Akad. d. Wissensch. **24**, 14. Juli 1923.

Vorläufig habe ich mich damit begnügt, die vererbten Eigentümlichkeiten im Wachstum als physiologische Voraussetzungen anzunehmen, wie wir eben in der Biologie vielfach genötigt sind, komplizierte Prozesse gewissermaßen als Konstanten anzunehmen.

Wie mag der Eingriff aussehen, der aus dem ursprünglich sich rasch mehrenden Zellenhaufen die ruhende Zellmasse macht, die schließlich der Auflösung und dem Tod anheimfällt. Ein Teil dieser jugendlichen Vorgänge sind die objektiv faßbaren Gewichtsunterschiede oder auch Vorgänge in der Änderung des Stoff- und Kraftwechsels, der wie der Grundgedanke eines Architekten von den künstlerischen Ausdrucksformen eines bestimmten Stiles gedeckt wird.

Um diesen angedeuteten Fragen näher zu kommen, knüpfe ich an eine ziemlich nüchterne und nebensächliche Erscheinung, bei dem Wassergehalt der Organismen an, was freilich nichts anderes besagen will als die Klärung des kolloidalen Zustandes. Tausendfältig sind Analysen, die man hier zur Betrachtung verwenden kann, gemacht worden, ohne daß man ihnen eine weitgehende Bedeutung zugewiesen hätte.

Betrachtungen über den Wasser- oder Trockengehalt lebender Wesen anzustellen, scheint im allgemeinen ein wenig ergiebiges Unternehmen zu sein, und das mit Recht, wenn man darunter nur die statistisch zahlenmäßige Feststellung dieser Verhältnisse versteht. Es kann als bekannt vorausgesetzt werden, daß in dieser Hinsicht, wenn man nur die Tierwelt allein betrachtet, recht erhebliche Unterschiede vorkommen, die sich noch erweitern, wenn man etwa auch noch die Mikroorganismen mit einbegreifen will. Der wässrigen Beschaffenheit der Quallen steht als anderes Extrem das fester gebaute Wirbeltier gegenüber. Das Leben scheint also mit wechselndem Gehalt an Wasser vereinbar zu sein. Es lassen sich aber auch andere Probleme aus diesen analytisch einfach zu erhebenden Tatsachen ableiten. Das Wasser kann man ja als einen unerläßlichen Teil der Kolloide auffassen, die Zellen und Gewebe aufbauen und auch in den Flüssigkeiten, wie Blut, Lymphe und Gewebssaft, vertreten sind, und im Stützgewebe der Tiere sich finden. Will man in dieser Hinsicht dem „Wasser“ die erhöhte Bedeutung zumessen, so bedarf man einer anderen Betrachtungsweise, als die einfache Hinnahme der analytischen Ergebnisse. Zunächst hat man zu überlegen, daß, wenn man das Wasser im wesentlichen als kolloidal gebunden annimmt, dies Verhältnis durch wasserunlösliche Einlagerungen in die Zellen naturgemäß verschoben wird. In erster Linie spielt eine solche störende Rolle das Fett und die Lipide überhaupt, zumal sie bis zur Hälfte und mehr der gesamten Trockensubstanz ausmachen können. Soweit sich aus analytischen Erhebungen errechnen läßt, verdrängt das Fett bei seiner Ablagerung im Körper

aber kein Wasser und führt auch normalerweise bei Schwund nicht zur Wasserablagerung. Hierfür kann man zahlreiche Beobachtungen anführen, auf die ich später zu sprechen komme. Den gewaltigsten und radikalsten Entfettungsvorgang haben wir im Hunger; in meinen vor Jahrzehnten schon ausgeführten und publizierten Versuchen über diesen Gegenstand habe ich gezeigt, daß eine Veränderung des Körpers in seinem Wasserbestand auch nach völligem Fettschwund nicht eintritt. Vor kurzem habe ich solche Versuche an kleinen Tieren (Mäusen) wiederholt. Bestimmt man das Verhältnis von organischer fettfreier Trockensubstanz zu Wasser, so hatten die fettfreien Normaltiere (23,7 Proz. Fett der Trockensubstanz)

77,12 g Wasser, 22,9 Proz. Trockensubstanz,
die verhungerten Tiere 77,2 g Wasser und 22,8 g Trockensubstanz. Natürlich muß man darauf achten, den hungernden Tieren die nötigen Getränke beizubringen. Eine andere Einlagerung betrifft, namentlich was die Leber, in zweiter Linie den Muskel anlangt, das Glykogen. Mit letztem wird wohl auch etwas Wasser deponiert, man kann nicht annehmen, daß es wasserfrei abgelagert werde, aber im großen und ganzen wird der Verschiedenheit der Ablagerung von Glykogen nicht allzuviel Einfluß auf jene Berechnungen zuzusprechen sein, welche von der Untersuchung des ganzen Tierleibes ausgehen.

Eiweißdepots ähnlich wie Fett und Glykogenablagerungen gibt es nur ganz ausnahmsweise, wesentlich käme nur ein Organ, die Leber, dabei in Betracht, was noch belangloser erscheint, wie die Ablagerung von Glykogen.

Sonach bleibt, wenn man auch die Asche noch in der Rechnung eliminiert, nur noch das Protein und Wasser übrig, deren gegenseitiges Verhältnis ein Ausdruck für die kolloidalen Zustände sein wird.

Gewiß haben wir außer dem kolloidal gebundenen Wasser auch freies Wasser, das durch den Körper hindurchzieht, verdaute Stoffe in das Blut und von da in die Zellen führt, auch wohl in sie eindringt und die Zelle wieder verläßt. Wie die Blutmenge bei den verschiedenen Säugern zur ganzen Masse der Organe im großen ganzen sich ähnlich verhält, so werden auch die von der Zirkulation überhaupt bewegten Flüssigkeiten in einem entsprechenden Verhältnis zur Zellmasse stehen, also allgemeine Schlußfolgerungen über die kolloidalen Zustände wohl erlauben.

Die Möglichkeit der Art des kolloidalen Aufbaues, welche selbst bei gleichen Verhältnissen zwischen der Trockensubstanz und dem Wasser gegeben sein kann, lassen sich heute von niemandem übersehen. Doch spricht vieles dafür, daß wir in weiten Gebieten des Lebens es mit einem Protoplasma von weitgehenden Ähnlichkeiten zu tun haben. Um nur eines zu nennen, liegt in dem ganzen Gebiet der

Warmblüter sozusagen ein Protoplasma einheitlicher Leistung vor, dessen Ungleichheit der Wirkung, wie es in den rohen Zahlen des Energieverbrauches und der Oxydation uns entgegentritt, auf ungleiche funktionelle Wirkungen der Außenwelt auf den Körper begründet ist und sich rechnerisch so abgleichen läßt, daß das verschleierte Bild ungleicher Leistung eine Einheitlichkeit der Funktion enthüllt.

Im Hinblick hierauf gewinnt dann doch ein so rohes Verfahren der einfachen Feststellung des Quellungszustandes erhöhten Sinn und Bedeutung.

Von diesem Gesichtspunkte aus mögen die folgenden Auseinandersetzungen gewürdigt werden. Die feineren Analysen müssen einer späteren Zukunft überlassen sein.

In einzelnen Teilen des Körpers sind zweifellos die kolloidalen Zustände sehr verschieden. Darüber habe ich in einer früheren Abhandlung¹⁾ bereits einiges angegeben und gezeigt, daß auch das fest gebundene (nicht vereisbare) Wasser wie das locker gebundene quantitative Unterschiede aufweisen, wie auch selbstredend zwischen kontraktilem und nicht kontraktilem Gewebe beachtenswerte Unterschiede vorhanden sind.

Auf diese Einzelheiten auch im folgenden einzugehen, ist nicht möglich, im allgemeinen soll der Gesamtorganismus als solcher in Betracht gezogen werden.

Im nachfolgenden sollen nun die Verhältnisse der Säugetiere näher in Betracht gezogen werden, aus dem einfachen Grunde, weil bei ihnen wenigstens einigermaßen genügendes experimentelles Material vorhanden ist, um die hauptsächlichsten Gesichtspunkte zu erörtern. Die Überfülle von Analysen, die für Nahrungsmitteluntersuchungen einzelner Teile, vor allem der Muskeln ausgeführt sind, hat nur bedingten Wert, weil die analytische Methode (besonders der Trocknungsentfettung) und Auswahl des Materials oft nicht näher bekannt und sehr verschieden ist.

Wie sich aus dem Folgenden ergeben wird, werden wir drei Entwicklungsperioden zu unterscheiden haben:

- a) die Verhältnisse bei ausgewachsenen Tieren,
- b) die intrauterine Entwicklungsperiode,
- c) das extrauterine Wachstum bis zur Vollendung des Wachstums.

Meine Untersuchungen stützen sich nur zum Teil auf fremde Analysen, zum größten Teil auf meine eigenen Beobachtungen und Ergebnisse meines Laboratoriums. Letztere sind, weil nach gleicher Methodik ausgeführt, besonders wichtig.

¹⁾ Über die Wasserbindung in Kolloiden. Berlin, Verlag der Akademie der Wissenschaften, 1922.

Der Organismus der Säugetiere im ausgewachsenen Zustande.

Schon vor mehreren Jahrzehnten habe ich darauf hingewiesen, daß das Verhältnis von Trockensubstanz zu Wasser sich bei den Muskeln anscheinend bei den verschiedenen Spezies der großen wie der kleinen Tiere innerhalb ganz enger Grenzen bewegt. Diese Tatsache läßt sich schon, obgleich gewisse eben geäußerte Bedenken wegen Ungleichheiten der Methodik vorliegen, aus den Nahrungsmittelanalysen erkennen, wenn man die Umrechnung auf Fett oder fett- und aschefreier Substanz durchführt.

Mit den Berechnungen, die sich auf die Analysen von Fleisch, wie sie für Nahrungsmittelzwecke verwendet werden, stützen, lassen sich freilich nur Näherungswerte erhalten, weil besonders bei sehr fetten Tieren das anlagernde Fettgewebe mit in die untersuchten Proben einbezogen ist, also nicht reine Muskelsubstanz vorliegt, sondern eine Mischung der letzteren mit Fettgewebe.

Folgende Zahlen mögen erwähnt sein. Es beträgt der Trockengehalt der fett- und aschefreien Substanz:

bei mittelfettem Ochsenfleisch	22,7
„ magerem Ochsenfleisch	21,2
„ fettem Kuhfleisch	22,0
„ magerem Kuhfleisch	20,6
„ Herzfleisch	22,7
„ Leber	23,0
„ Kalbfleisch, fett	20,1
„ Kalbfleisch, mager	20,1
„ Hühnerfleisch	23,3
„ Lachs	23,9
„ Hecht	18,9
„ Austerfleisch	16,9
„ Miesmuschelfleisch	21,0
„ Hummerfleisch	20,7

Sehr wenig Analysen liegen für die Vögel vor. Ein paar Analysen von kaltblütigen Wirbeltieren, Muscheln und Krustaceen sind angefügt. Die weitgehende Übereinstimmung der Werte läßt erkennen, daß der gleichartige Quellungszustand eine wichtige grundlegende Eigenschaft der betreffenden Lebewesen sein muß.

Auch die Zahlen verschiedener Organe zeigen keine nennenswerten Abweichungen, für viele Zwecke wird es besser sein, wie angegeben, den Organismus als Ganzes auf seine Zusammensetzung zu untersuchen. Die ganze Leibesmasse enthält, asche- und fettfrei berechnet, beim Menschen 23,4 Proz., beim Kaninchen 23,68 Proz., bei der Maus 21,73 Proz. Trockensubstanz. Werte, welche noch näher übereingehen dürften, wenn wir über Mittelzahlen aus größeren Reihen verfügen könnten.

Daraus folgt weiter, daß bei einem und demselben Quellungs- und Quellungsgrad des Protoplasmas die Intensität des Energiewechsels und des Eiweißumsatzes eine ganz verschiedene Größe haben kann, denn je kleiner ein Tier ist, um so größer ist auch sein Verbrennungsprozeß. Zwischen Maus und Mensch ist der Unterschied im Energiewechsel enorm. Die Lebhafte des letzteren wird demnach durch die bestimmten Besonderheiten des Protoplasmas selbst und nicht durch eine Variation des ganzen kolloidalen Zustandes, insoweit derselbe in dem Grade der Wasserbindung seinen Ausdruck findet, hervorgerufen. Der Trockengehalt von 22 bis 23 Proz. scheint also für die Leistungen des Protoplasmas der optimale zu sein, bei diesem Aufbau vermag es alle Funktionen, die dem erwachsenen Tiere zukommen, zu leisten. Die Leistungen setzen sich stets aus zwei Gruppen von Funktionen zusammen, einmal aus solchen, die gleichmäßig und ebenmäßig weitergehen, und solchen, welche durch nervöse Einflüsse hervorgerufen werden. Der Muskel hat, was seinen Stoffwechsel anlangt, auch bei absoluter Ruhe eine gewisse Größe des Nahrungsverbrauchs, sagen wir einen Basalstoffwechsel, auf den sich tonische Leistungen oder Muskularbeit aufbauen können. Die Quellung hält das Protoplasma in seiner leistungsfähigen Beschaffenheit für den Ruhe-, wie für den Arbeitsstoffwechsel. Das Protoplasma macht Änderungen durch, die sich in den Leistungen ausprägen, ohne daß seine kolloidale Beschaffenheit im ganzen sich ändert. Beim Muskel habe ich gezeigt, wie innere Verschiebungen des Wassers eintreten, die keine Veränderung der Gesamtquantität des Wassers notwendig machen.

Die Verschiedenheiten der Intensität der Wärmebildung und des Energieverbrauches bei großen und kleinen Tieren beruhen nicht auf einer spezifisch verschiedenen Protoplasmanasse, sondern im Gebiete der Säuger auf einem Protoplasma, das durch äußere Einwirkungen, wie die Abkühlung, ähnlich wie bei der Muskeltätigkeit und Arbeit der Fall ist, auf verschiedene Leistungsgrößen gebracht ist. Das geht am besten aus der Tatsache hervor, daß Säuger, auf gleiche Größe berechnet, eine nahezu einheitliche Größe des Energieverbrauches haben.

Die Übereinstimmung aller bekannten Säuger im kolloidalen rohen Aufbau des Zellkörpers, d. h. in der Verteilung von Wasser und Protein, läßt zwar eine weitgehende Variation der funktionellen Leistungen (Energiewechsel usw.) zu, aber sie verträgt nur geringfügige Verschiebungen im Wassergehalt, ohne mit pathologischen Zuständen zu reagieren.

Schon die Gleichmäßigkeit des Quellungsgrades durch Jahrzehnte hindurch, wie sie z. B. beim Menschen besteht, setzt umfangreiche Regulationseinrichtungen voraus, um diesen Zustand zu erhalten.

Die Nieren wehren vor allem den Überfluß an Wasser im Körper ab, und der Durst zwingt uns, ein Zuwenig an Wasserezufuhr wieder abzugleichen.

Bei Experimenten an Tieren mit ausschließlicher Wasserentziehung treten schon Störungen der Muskeltätigkeit bei Verlust von 11 Proz. des Wassers der Organe und der Dursttod bei 22 Proz. Verlust des Organwassers auf. Vielleicht läßt man aber diese Argumente nicht als Beweise veränderter Quellung gelten, weil es sich dabei möglicherweise auch um die Ansammlung giftiger Umsetzungsprodukte im Körper, die sonst aus den Nieren ausgeschieden werden, handeln könnte. Aber ebensowohl könnte man behaupten, daß eine Änderung des kolloidalen Zustandes die Aufnahme von Nährstoffen durch die Zelle nicht mehr in genügendem Maße erlaubt, der veränderte kolloidale Zustand also mittelbar einen Einfluß auf die Lebensvorgänge ausübt.

Der entgegengesetzte Versuch, eine erhöhte Quellung durch vermehrte Wasserezufuhr herbeizuführen, läßt sich nicht ausführen, weil eine Verwässerung des Blutes und der Organe durch Hemmung der Resorption oder Entwässerung des Blutes durch die Nieren unmöglich gemacht wird, womit nicht gesagt sein soll, daß kleine Anteile von Wasser bei überreichlichem mehrtägigen Genuß nicht im Körper zurückgehalten werden. Für die letztere Annahme spricht die Erfahrung, daß Diuretika nur dann prompt wirken, wenn dem Körper vorher gewohnheitsmäßig eine reichlichere Getränkzufuhr geboten worden ist. Von den pathologischen Zuständen der Wasseraufspeicherung, wie sie mitunter zu beobachten sind, soll abgesehen werden, weil hier nicht immer die Zellen selbst oder allein wasserreicher geworden sind.

Die Frage, ob es solche pathologische Einlegungen der Zellen mit Wasser gibt, welche die Funktionen stören, und welche Grenzwerte in Frage kommen, muß vorläufig offengelassen werden.

Zu dem normalen Leben der uns näher bekannten Säuger und des Menschen gehört also ein gleichmäßiger Wassergehalt der Zellen der Organismen, der durch das ganze Säugetierreich hindurch offenbar derselbe ist und während des Lebens durch sorgfältige Regulation beibehalten wird. Inwieweit etwa in hohem Alter Änderungen auftreten, ist durch keinerlei Experiment sichergestellt oder durch Analysen belegt. Einige orientierende Zahlen lassen erkennen, daß der eben berührte gleichmäßige Wassergehalt auch bei Vögeln und manchen Reptilien und Amphibien und Fischen besteht, keinesfalls sich also nur auf die Säuger beschränkt. Jedenfalls finden sich nirgendwo Anhaltspunkte einer Übertretung der oben angegebenen Grenzen im Sinne einer erhöhten Trockenheit der Gewebe, so daß gewissermaßen die Säuger auf der obersten Stufe der Konzentration des Proteins, welche mit den Lebensleistungen vereinbar ist, zu stehen scheinen.

Bei niederen Organismen läßt sich die Austrocknung des Körpers vornehmen, sie können in lufttrockenem Zustande lange Zeit eine völlige Lebenslatenz vertragen und durch Befeuchtung wieder zum Leben gebracht werden.

Aber nur wenige Spezies tierischer Organismen vermögen eine weitgehende Austrocknung für lange Zeit zu überstehen bis zur Latenz ihrer gesamten Lebensfunktionen. Dazu zählen gewisse Rotatorien, Tardigraden und Nematoden. Bei Befeuchtung leben sie wie angegeben wieder auf.

An Tenebriolarven hat *Br. Berger* (Pflügers Arch. 118, 1907) einige Untersuchungen angestellt (Mehlwürmer). Er ließ dieselben in einem mit konzentrierter Schwefelsäure absolut wasserfrei gemachten Raum in Kleie etwa einen Monat zur Beobachtung. Die meisten Larven starben, alle zeigten Gewichtsverluste, die wenigen überlebenden aber prozentisch *keinen* Wasserverlust. Daraus folgt, daß es sich hier um einen *Hunger*-Versuch gehandelt hat. Die Larven haben keine Nahrung oder sehr wenig aufgenommen und mit dem Wasser des eigenen Körpers und dem Oxydationswasser gelebt. Das ist übrigens beim Säuger im Hungerzustande die Regel. Hungernde Tiere nehmen bei niedriger Luftwärme und mittlerer Luftfeuchtigkeit kein Trinkwasser auf. Abgestorbene Larven trocknen schnell aus.

In trockenem Mehl (12 Proz. Wasser) und unter Atmung in üblicher wasserdampfhaltiger Luft leben die Larven ohne Änderung des Gewichts, allerdings unter allmählicher Zunahme des Trockengehaltes von 39,99 bis 40 und 42 Proz. Meines Erachtens wird es sich dabei auch um einen teilweisen Verlust von Körpereiweiß und dafür um Ansatz von Glykogen und Fett gehandelt haben. Die Eigenart der Tenebriolarven und ähnlicher Tiere scheint darin zu liegen, daß sie eine für Wasserdampf jedenfalls ungemein schwer durchgängige Hülle besitzen.

Das intrauterine Wachstum.

In einem auffallenden Gegensatz zu den Verhältnissen im ausgewachsenen Körper stehen die kolloidalen Zustände während des *intrauterinen Wachstums*. Jeder, der die Entwicklung des Hühnereies verfolgt hat, wird beobachtet haben, wie zart und leicht verletzlich besonders die ersten Stadien des heranwachsenden Embryos sind, auch jene der Säuger machen bei ihrer ersten Ausbildung den Eindruck einer weichen, wenig widerstandsfähigen Masse. Wie weit zurück die ersten Beobachtungen dieser Art liegen, ist schwer zu sagen, die ersten quantitativen Untersuchungen über die Zusammensetzung menschlicher Embryonen sind aber schon vor vielen Jahrzehnten von *Fehling* ausgeführt worden. Sobald man jedoch kritisch die Ergebnisse betrachtet, wird man sich sagen müssen, daß solche Zahlen über den

Wassergehalt gerade in dieser Periode wenig besagen, weil ja die Fettablagerung in Embryonen sehr spät erfolgt, ja bisweilen sogar erst nach der Geburt kräftig einsetzt. Man wird daher die Berechnung auf fettfreie Substanz anwenden müssen, und nach dieser Umformung der Ergebnisse tritt das, worum es sich handelt, noch schärfer hervor, als bei einfacher Beachtung des Wassergehaltes. Der kolloidale Zustand der Embryonen ist grundsätzlich von der Beschaffenheit des ausgewachsenen Zustandes in dem Sinne verschieden, als der Quellungsgrad der Zellen um so höher ist, je jünger die Embryonen sind.

Betrachten wir zunächst die Werte für den Menschen, so ergeben sich für 100 g fett- und aschefrei gedachter Körper folgende Mengen organischer Substanz:

im 6. Monat	9,7 Proz.
„ 7. „	14,0 „
„ 8. „	16,7 „
Neugeborenes	15,7 „
Kind, 3 Monate alt	17,1 „
Erwachsener	23,4 „

Die letztere Zahl dürfte, als Durchschnitt betrachtet, etwas zu hoch sein. Auf ein früheres Studium der Entwicklung führen uns Zahlen, die man bei der Bebrütung des Hühnereies gewonnen hat. •Nach obiger Voraussetzung berechnet, fand sich:

beim Embryo vom 7. Tage . . .	6,70 Proz. Trockensubstanz
beim Embryo vom 14. „ . . .	12,78 „ „
reife Frucht vom 21. „ . . .	18,88 „ „

Im ersten Drittel der Entwicklung steht der Wassergehalt nahezu rund dreimal so hoch als beim ausgebrüteten Hühnchen. *Davenport* und *Schaper* bestimmten Wasser- und Trockensubstanz bei der Entwicklung der Frösche (*Proceed. of the Boston Soc. of nat. hist.* 28, 1897 und *Arch. f. Entw. mech.* 14, 1902) und fanden:

Tag nach der Befruchtung	Trockensubstanz Proz.
8	44
12	23
16	7
20	5
27	5
40	5
78	6,6

Vor dem 16. Tage haben die Eier einen ganz hohen Trockengehalt, dann sinkt er rasch unter Aufquellung derselben und hält sich ungefähr auf gleicher Höhe [siehe *Höber*¹⁾, S. 40], der osmotische Druck nimmt bei der Quellung zu, obschon der Wassergehalt steigt.

¹⁾ Physikal. Chem. 1914.

Kombiniert man diese allerdings an verschiedenen Tieren gemachten Beobachtungen, so kommt man zu dem Schluß, der Entwicklungsgang auch der Säuger beginnt mit einem Gewebe von hohem Wassergehalt, um mit einem relativ hohen Gehalt an Protein im erwachsenen Zustande zu enden. Die niedrigste Grenze des Wassergehalts der Gewebe bewegt sich etwa zwischen 93 bis 95 Proz. In gleichen Zeitperioden der Entwicklung scheint ungefähr derselbe Proteingehalt erreicht zu werden. Wenn man Mensch und Huhn vergleicht, indem man die ganze Entwicklungszeit = 100 setzt und die oben angegebenen Termine der Untersuchung hierauf reduziert, so hat man:

Huhn	33,3,	6,7 Proz. Trockensubstanz
Mensch	64,2,	14,0 " "
Huhn	66,6,	12,8 " "
Mensch	75,0,	15,7 " "
Huhn	100,0,	18,9 " "
Mensch	100,0,	15,7 " "

Die allererste Entwicklungszeit und ihre kolloidalen Verhältnisse kennen wir beim Säuger nicht, aber es ist wohl anzunehmen, daß die an Hühnereiembryonen und am Frosch gewonnenen Zahlen der untersten Grenze des Trockengehaltes schon sehr nahe stehen werden.

Der Wasserreichtum der Gewebe im 6. Monat beim menschlichen Fötus betrifft einen Organismus, der in allen wesentlichen Teilen der späteren Frucht entspricht.

Der Wassergehalt ausgewachsener Individuen stellt demnach einen äußersten Grenzwert der Konzentration der Protoplasmamasse dar, während die intrauterine Entwicklung von einem Grenzwert höchsten Wassergehalts beginnt, der, wie schon erwähnt, direkt noch keine Feststellung gefunden hat. Die allgemeinen Leistungen der sechsmonatigen Embryonen umfassen schon sozusagen alle Gebiete, die auch bei dem ausgetragenen Kinde kurz vor der Geburt möglich sind, Zirkulation, Sekretionen, Muskel- und Nerventätigkeit.

Für drei Säuger können wenigstens die Unterschiede zwischen dem Trockengehalt im Embryonalzustande und im erwachsenen Zustande noch nach eigenen Untersuchungen angefügt werden:

Maus, neugeboren	12,61 Proz. Trockensubstanz
„ erwachsen	21,73 " "
Kaninchenembryo	9,94 " "
Kaninchen, erwachsen	23,68 " "
Meerschweinchenembryo	10,32 " "
Meerschweinchen, neugeboren	19,40 " "

Die noch sehr unentwickelt geborene Maus kommt mit einem sehr großen Wassergehalt auf die Welt, das neugeborene Meerschweinchen, das in seinem ganzen Verhalten grundsätzlich verschieden ist von der Maus, denn es kann sofort nach der Geburt sich frei bewegen und

nimmt alsbald gemischtes Futter auf, wie die Mutter, hat einen Trockengehalt, der schon jenem der ausgewachsenen Tiere näher kommt.

Die extrauterine Lebensfähigkeit erweist sich nach den bisher vorliegenden Unterlagen als unabhängig von dem Quellungszustand der Zellen. Auch Tiere mit stark wasserhaltigen Zellen eignen sich für die Ausübung aller zum Leben notwendigen Funktionen. Bei der neugeborenen Maus mit einem Wassergehalt von 87,4 Proz. verlaufen wichtige Funktionen, wie Wärmebildung, Bewegung, Verdauung, Kreislauf und Atmung, Sekretion und Exkretion in normaler Weise. Es ist freilich erst zu beweisen, inwieweit *alle* diese funktionellen Größen wirklich dieselben sind, wie bei dem Tiere derselben Art mit bereits weit vorgeschrittener Entwässerung der Zellen. Über die Bedeutung des embryonalen hohen Wassergehaltes sind bisher irgendwelche überzeugenden Anschauungen nicht geäußert worden. Die Beobachtungen über den hohen Gehalt an Wasser beim Wachstum, wie sie *Davenport* und *Schaper* an den Froschlarven gezeigt haben, sind nur in dem Sinne gedeutet worden, daß das Wasser in interstitiellen Geweben eingelagert werde und gewissermaßen durch die Quellung zu einer Art Turgor verhelfen solle (siehe *Pütter*, Vergleichende Physiologie 1911, S. 119). Wozu aber dieser Turgor, wie die Wasserabnahme zeigt, immer mit dem Wachstum kleiner werden sollte, und zwar von Woche zu Woche, läßt sich weder verstehen, noch auch aus den Eigenschaften der Gewebe erklären. Weil die Embryonen und die Fötusse wasserhaltiger sind als die reifen Tiere, so hat man ihnen früher nur eine *vita minima* zugesprochen (*Pflüger*, *Zuntz*, *Cohnstein*). Spätere Untersuchungen haben diese Anschauung aber widerlegt. *Bohr* hat für das Ende der Embryonalperiode gezeigt, daß der Kaninchenembryo mehr Kohlensäure ausatmet als das Muttertier, auf gleiche Gewichte bezogen. *Tanagl* fand beim Hühnerembryo im Mittel der ganzen Wachstumszeit einen Energieverbrauch, der größer war als der eines gleichschweren reifen Tieres. Auch andere Beobachtungen stellten den pro Gewichtseinheit erheblichen Energieverbrauch des Embryo fest. Er ist um so größer, je kleiner das Muttertier überhaupt ist, und die Tragzeit der meisten bekannten Säuger ist nach meinen Untersuchungen um so kürzer, je lebhafter der Energiewechsel ist (Wachstumsprobleme, S. 181). Es liegt in der Natur der Sache, daß alle bis jetzt genannten Untersuchungen wegen der Schwierigkeit der Zugänglichkeit des Objektes, d. h. der Embryonen, mehr oder minder lückenhaft sind. Dagegen lassen sich für den Menschen befriedigende Angaben machen. Der Stoff- und Energiewechsel des Fötusses aus der letzten Zeit vor der Geburt läßt sich durch die Untersuchung der Neugeborenen selbst festsetzen. Für den Fötus früherer Monate aber können wir Untersuchungen an frühgeborenen Kindern verwerten. *Langstein* und ich

haben zwei Kinder, die Anfang des 7. Monats geboren waren, mit einem Geburtsgewicht von nur 2050 bzw. 1640 g, Ende des 7. Monats genau untersucht. Die bemerkenswertesten Ergebnisse waren:

1. Das rasche Wachstum dieser Frühgeborenen, die doppelt so schnell als ein Normalgeborenes an Gewicht zunahmen.

2. Die starke Verwertung der Nahrung zum Aufbau überhaupt. Von dem Nahrungsüberschuß über den Betriebsstoffwechsel wurden 80 bis 94 Proz. für den Aufbau verwendet.

3. Der Betriebsstoffwechsel machte größtenfalls 58 Proz., der Wachstumszuwachs 42 Proz. der Gesamtzufuhr aus, letzteres bedeutet eine außerordentlich große Beteiligung des Wachstums am Gesamtenergieverbrauch.

4. Der Betriebsstoffwechsel ist gegenüber dem des Neugeborenen stark erhöht, wie dies auch die ungleiche relative Oberflächenentwicklung zwischen Neugeborenen und Frühgeburt rechnerisch ergeben würde. Dabei ist der Körper sehr stark wasserhaltig, die fett- und aschefreie Trockensubstanz machte nur 12 bis 14 Proz. aus, beim Neugeborenen etwa 16, worauf die Abnahme langsam weiter schreitet, in welcher Zeitfolge das geschieht, hat man bisher an heranwachsenden Kindern und Jugendlichen nicht untersucht.

In 100 g fett- und aschefrei gedachten Körpers sind an Trockensubstanz nach *Camerer* und *Söldner* beim Neugeborenen 15,7 g mit 2,3 g N, nach *Langstein* und *Edelstein* Fötus, Anfang vom 7. Monat, 12,8 g mit 1,81 g N. Die Verteilung der Salze ist für obige Fälle auch bekannt¹⁾.

Auf 100 g N des fettfreien Trockenkörpers kommen:

	K ₂ O	Na ₂ O	CaO	MgO	Cl
Neugeborenen	9	10,0	51,0	2,0	9,0
Beginn des 7. Monats	11,5	19,0	59,5	2,0	15,0

Für die Zeit vor dem 6. Monat liegen Untersuchungen wie die von *Langstein* und mir nicht vor, weil so früh geborene Kinder nicht lebensfähig sind. Es widerspräche aber jeder Logik, wenn man annehmen wollte, vor dem 6. Monat seien die Lebensvorgänge völlig andere. Sie werden mit der Kleinheit der Embryonen zu einem Energieverbrauch führen, der allmählich sich steigert. Bis zu welcher Grenze das geschieht, läßt sich heute nicht sagen. Jedenfalls liegt in obigem der Beweis vor, daß der erhebliche Wasserreichtum in Embryonen, die nahezu die halbe Tragzeit durchlebt haben, einen nachteiligen Einfluß auf den Betriebsstoffwechsel und das Wachstum nicht äußert. Man

¹⁾ *Langstein* und *Edelstein*, Zeitschr. f. Kinderheilk. 15, 63, 1916.

hat auch behaupten wollen, der höhere Wassergehalt der Embryonen sei gewissermaßen aus der Entwicklungsgeschichte verständlich. Wie unser Stammbaum sich in verkürzter Form dabei wiederholt, so würden sich auch die Zelleigenschaften wiederholen und durch die Eigenschaften unserer Vorgänger erst auf die Stufe der Säuger führen. Eine solche Anschauung findet in den Zahlenwerten keinen Ausdruck, denn zu einer Zeit, wo der Mensch in seiner Eigenart sozusagen schon ausgebildet vorliegt, wie im 6. Monat, sehen wir aus den obigen Zahlen noch immer einen sehr hohen Wassergehalt der Organe. Es muß also diese merkwürdige Tatsache mit anderen Vorgängen beim Wachstum zusammenhängen.

Ehe wir weiter auf diese Frage der Bedeutung des wechselnden Wassergehaltes eingehen, bleibt noch zu untersuchen, ob mit der Geburt die Periode hohen Wassergehaltes abschließt. Das Unzutreffende einer solchen Annahme geht aus einigen Hinweisen hervor, die ich oben gemacht habe. Tatsächlich kommen Tiere noch mit hohem Wassergehalt zur Welt und müssen ihn weiterhin abgleichen. Zur Lösung der gestellten Frage besitzen wir aber feste Unterlagen.

Die extrauterine Wachstumsperiode.

Wie sich die Verhältnisse nach der Geburt bis zum Zustande des Ausgewachsenseins ändern, ist durch Versuche von *C. Thomas* in meinem Laboratorium systematisch für den Hund und die Katze festgestellt worden. Die Berechnung ist wie oben für fett- und asche-freie Substanz ausgeführt.

Hund.		Katze.	
	Trockensubstanz Proz.		Trockensubstanz Proz.
Geburtsgewicht . . .	16,40	Geburtsgewicht . . .	16,50
2 faches Geburtsgew.	17,02	2 faches Geburtsgew.	15,1
4 " "	18,86	4 " "	18,40
8 " "	19,06	16 " "	19,80
16 " "	22,24		

Beim Menschen entspricht dem Zustande des Erwachsenseins das 20fache Geburtsgewicht. Bei Tieren mit noch sehr unreifen Neugeborenen und andererseits bei hochentwickelten Neugeborenen liegen die Verhältnisse natürlich verschieden. Aus den Zahlen für Hund und Katze ergibt sich im Laufe des extrauterinen Wachstums zweifellos noch eine allmähliche Änderung des Wassergehaltes der Zellen, die sogar nicht unbedeutend erscheint und bis nahe an das Ende des Wachstums hinzieht.

Für den Menschen liegt leider kein Zahlenmaterial vor, wir dürfen aber wohl vermuten, daß bei ihm gleichfalls erst im Laufe längerer

Zeit der Wassergehalt des drei Monate alten Kindes von 17,1 Proz. auf den Trockengehalt des Erwachsenen von 23,44 Proz. gebracht wird. Die Periode einer allmählichen Konzentrierung des Protoplasmas nimmt danach nicht mit der Geburt ein Ende, sondern zieht sich weiter fort, vielleicht so lange, als man überhaupt von echtem Wachstum reden kann. Die Änderung des Quellungszustandes nimmt mit Bestimmtheit bei Erreichung des Erwachsenseins sein Ende. Die grundlegende Lösung des Problems betrifft einerseits die Aufklärung der Ursache, durch welche ein so ungleicher Wassergehalt der Gewebe herbeigeführt wird, und andererseits die Feststellung, ob mit dem ungleichen Wassergehalt auch besondere Funktionen des Körpers verbunden sind.

Die Ursachen für den verschiedenen Wassergehalt können zwei sein, entweder wechselt die Natur der die Kolloide aufbauenden Substanzen vom Embryonalzustand bis zur Vollendung des Wachstums, also so, daß zuerst das Protoplasma der noch nicht ausgewachsenen Tiere ein verschiedenes Quellungsvermögen besitzt, oder es kann zwar eine einheitliche Beschaffenheit des Protoplasmas vorhanden sein, die osmotischen Verhältnisse aber einen verschiedenen Grad der Quellung erlauben. Oder endlich als dritte Möglichkeit, sowohl Änderung des Protoplasmas, wie Änderung der osmotischen Verhältnisse, oder periodenweise sich ändernde Zustände, der etwa in der allerersten Entwicklung eine Verschiedenartigkeit des Protoplasmas und später eine Änderung des gleichbleibenden Protoplasmas durch sich ändernde osmotische Verhältnisse entsprechen. Bei der Reduktion des Wassergehaltes ist auch das Blut, wenn schon nicht im besonderen Maße beteiligt. Die Zahlen über die Blutmenge verschiedener Tiere haben bis jetzt sehr erhebliche Abweichungen gezeigt. Diese Unstimmigkeiten haben sich aufklären lassen.

Von *G. Dreyer* und *W. Ray*¹⁾ wurden genaue Angaben für die Blutmenge bei Kaninchen, Meerschweinchen und Maus für Tiere verschiedener Größe gemacht. Die Verfasser haben gezeigt, daß die Entwicklung der Blutmenge (bezogen auf Rohgewicht der Tiere) sich verhält wie die Oberflächenentwicklung jeder Spezies. Die Verschiedenheiten der früheren Angaben über die Blutmengen waren wesentlich durch die Unkenntnisse dieser interessanten Beziehung so sehr schwankend gewesen. Man kann aus den Grundzahlen der genannten Autoren noch weitere Schlüsse ziehen.

Was den Menschen anlangt, so waren wir für den Erwachsenen lange Zeit nur auf die Blutmengebestimmung von *E. Bischoff* an zwei Enthaup teten angewiesen (7,1 bis 7,72 Proz. Blut). *Haldane* und

¹⁾ Philos. Transact. of the Royal. Soc. of London, Ser. B, V., 201, 133ff.

Smith haben am Lebenden (durch Gasatmung) viel kleinere Werte gefunden (3,34 bis 6,27) im Mittel 4,80 Proz.

Die Blutmenge für *erwachsene* Säuger wird nach diesen Bestimmungen

beim Menschen	4,80 Proz.
„ Kaninchen	4,86 „
„ Meerschweinchen	3,95 „
bei der Maus	4,94 „

alles Zahlen, die sich sehr nahe stehen. Würde man das „Reingewicht“ der Tiere zugrunde legen, so würden vermutlich die Zahlen bei Kaninchen und Meerschweinchen um etwa 10 bis 15 Proz. höher werden.

In der Jugend sind alle Organismen (siehe oben) nach *Dreyer* und *Ray* blutreicher; was übrigens schon *Rancke* angegeben hatte. Das Blut muß aber dann auch wasserreicher sein, und außerdem überwiegen bei kleineren Tieren die Drüsenmassen über der Muskulatur, was im gleichen Sinne wirkt, d. h. die Wassermenge mehr.

Beim ausgewachsenen Tiere verhalten sich die Blutmengen nicht wie die Oberfläche. Die definitive Einstellung erfolgt, wie man sieht, „prozentisch etwa gleich“, wie ja auch sonst die Organverteilung bei groß und klein im erwachsenen Zustande etwa dieselbe ist. Auch das Gewicht der Haut ändert sich keineswegs wie die relative Oberfläche, weil bei großen Tieren die Dicke der Haut gleichfalls mit dem Körpergewicht sich ändert.

Die Menge des Blutes nimmt beim Vergleich ausgewachsener Tiere oder Menschen pro 1 qm Oberfläche zu.

	Gewicht g	Oberfläche ccm	Blutmenge ccm	Pro 1 qm Oberfläche ccm Blut
Mensch	70 000	20 400	3360	1647
Kaninchen	3 250	2 738	148	540
Meerschweinchen	825	924	27,3	298
Maus	27,5	101	1,4	141

Das hängt damit zusammen, daß mit zunehmendem Gewicht pro 1 qm auch die Organmasse steigt.

Mensch	34,3 kg pro Quadratmeter
Kaninchen	11,87 „ „ „
Meerschweinchen	8,70 „ „ „
Maus	2,70 „ „ „

Angaben über den absoluten Gehalt an Hämoglobin obiger Säuger liegen bis jetzt nicht vor.

Die Änderung der osmotischen Verhältnisse im Laufe der Entwicklung sind zwar nicht für die Säuger, wohl aber bei anderen Tieren festgestellt worden mittels der Bestimmung der Gefrierpunktsniedrigung.

So läßt sich für die Tabelle S. 195 folgende Ergänzung betreffs der Gefrierpunktserniedrigung geben: Für die Entwicklung der Frösche:

Tag nach der Befruchtung	Trockensubstanz Proz.	Gefrierpunktserniedrigung °C
8	44	0,27
12	23	0,30
16	7	0,36
20	5	0,38
27	5	0,42
40	5	0,45
78	6,6	0,45

Bei der Bebrütung des Hühnereies hat *Bilaszewitz* bestimmt:

	°C	Trockensubstanz Proz.
6. Bruttag	0,508	6,70 (7. Tag)
10. "	0,523	—
14. "	0,650	12,78
18. "	0,601	18,88 (21. Tag)

Ich habe daneben den Trockengehalt des Hühnerembryos bemerkt, nach Tabelle S. 195, oben. Es finden sich also wohl entsprechend der Konzentrationsänderung auch Verschiedenheiten der osmotischen Spannung, zu deren Erzeugung allerdings nur sehr mäßige Änderungen des Salzgehaltes Veranlassung geben können, denn eine 0,58 proz. ClNa-Lösung hat — 0,348°, 1,17 proz. ClNa-Lösung hat 0,688° *Gefrierpunktserniedrigung*.

Man kann ja allerdings aus der Gefrierpunktsbestimmung allein keine Schlüsse auf die inneren Vorgänge einer so komplizierten Mischung, wie das ein Organgemenge ist, ziehen.

Bei den Säugetieren bietet der fötale Kreislauf eine innige Berührung zum Blute der Mutter, so daß hier scheinbar in der Mutter und Frucht dieselben osmotischen Verhältnisse gegeben erscheinen. Doch gibt es Beispiele starker Änderung des Wassergehaltes von Zellen auch ohne eine erhebliche Änderung der osmotischen Spannung, so daß auch unter den Bedingungen des Plazentakreislaufes Verschiedenheiten auf beiden Seiten nicht ausgeschlossen sind.

Der hohe Wassergehalt im embryonalen Leben wird, wie die Beobachtungen lehren, genau so festgehalten, und zwar in den einzelnen Perioden, wie später der konstante Wassergehalt bei dem Ausgewachsenen. Er darf auch ohne gesundheitlichen Schaden nicht variiert werden. Dies geht mit Bestimmtheit aus pädiatrischen Beobachtungen hervor; eine nur sehr geringfügige Verminderung der Wasserzufuhr kann nicht nur Stillstand des Wachstums, sondern auch Fieber und

dergleichen zur Folge haben; Vorkommnisse, die sofort sich durch Wasserzufuhr beheben lassen. Eine Verminderung des Wassergehaltes, nicht höher als jene, die in den nächsten Monaten spontan sich vollzieht, kann lebensgefährlich sein.

Ein kleines erwachsenes Tier kann mit einem Neugeborenen einer anderen Spezies von gleicher Größe und gleichem Gewicht sein, sie werden sich aber in ihrem Wassergehalt wesentlich unterscheiden, wenn auch sonst die allgemeinen Funktionen und die Tätigkeit ihrer Organe sich nicht unterscheiden. Der verschiedene Wassergehalt zwischen beiden hat anscheinend keine Wirkung auf die Lebenserscheinungen überhaupt. Kommt es aber bei einem Erwachsenen durch unzureichende Ernährung zu einer Mehrung des Wassergehaltes, die jenen eines Neugeborenen noch lange nicht erreicht, so treten pathologische Zustände auf. Wozu besteht aber ein verschiedener Wassergehalt als Norm normalen Gedeihens? Wenn man sich von diesen allgemeinen Betrachtungen nicht befriedigt fühlt, so kann man ja noch einige besondere funktionellen Leistungen betrachten. Von den funktionellen Äußerungen kämen in erster Linie die Energie und der Stoffwechsel als Mittel zur Beurteilung der Lebensintensität in Frage, für den Fötus liegen nur wenige Bestimmungen vor, welche für den Menschen erkennen lassen, daß er wenigstens in den letzten Monaten vor der Geburt sicherlich keinen geringeren Stoffwechsel hat, als durch die Besonderheiten des späteren extrauterinen Lebens zu erwarten ist. Und für die Zeit nach der Geburt, wo wir die Verhältnisse näher kennen, steht fest, daß der Energieverbrauch im eigentlichen Betriebsstoffwechsel des Wachsenden jedenfalls weder höher noch kleiner ist, als späterhin im ausgewachsenen Zustande. Somit ergibt sich der Schluß, daß trotz Verschiedenheit der Gewebe im Wassergehalt des Neugeborenen und Erwachsenen im Betriebsstoffwechsel eine Veränderung nicht vorhanden ist.

Die gleiche Frage, wie sich der Stoffwechsel des Neugeborenen zum Stoffwechsel des Erwachsenen verhält, läßt sich auch noch bei der Maus, dem kleinsten für Experimente zu verwendenden Säuger nachprüfen, was um so wichtiger erscheint, als die neugeborene Maus noch unvollkommen entwickelt ist und einen Wassergehalt besitzt, der bei anderen Tieren nur in früherer intrauteriner Lebenszeit auftritt. Ich habe solche Experimente angestellt und gefunden, daß im Energieverbrauch zwischen Neugeborenen und Mäusen in der ersten Verdoppelungsperiode (bei 35° Luftwärme beobachtet) kein Unterschied in der Oxydation besteht. Der Trockengehalt (ohne Korrektur für Fett und Asche) war bei den Neugeborenen 17,1 Proz., bei den Mäusen der ersten Verdoppelungszeit 21,1 Proz. Sie hatten in 6 Tagen um 4 Proz. an Trockensubstanz zugenommen.

Natürlich müssen sich solche Unterschiede des Trockengehaltes auch in der Oxydation ausdrücken, wenn man pro Kilo Gewicht Angaben macht, denn die Gewichtseinheit enthält verschiedene Mengen lebender Masse. Allein Differenzen von 4 bis 5 Proz. und ähnliches können nur schwer und nur durch längere und zahlreiche Versuchsreihen aufgedeckt werden, was bisher nicht geschehen ist. Auf den Energiewechsel in den frühesten Stadien der Entwicklung des Säugers können wir leider nicht zurückgreifen, nicht in großen Perioden, wo das Leben sich bei dem höchsten Grade des Wassergehaltes vollzieht. Möglich, daß da die Verhältnisse andere sind.

Das tatsächliche Material und unsere Erfahrung läßt somit kein Urteil zu, was die gesetzmäßige Änderung des Wassergehaltes im Wachstum der Tiere bedeutet. Aber daß sie eben eng mit dem Wachstum zusammenhängt, das muß doch den Kardinalpunkt für jede weitere Überlegung bilden.

II. Über die Wirkungen plasmolytischer Veränderungen auf die Ernährungsvorgänge bei den Zellen.

Der Energieverbrauch, d. h. die Intensität des Lebensprozesses, tritt uns in verschiedenen Formen und in verschiedener Größenordnung entgegen. Im erwachsenen Zustande haben wir bei den Säugern Tiere von sehr verschiedener Größe, sämtlich mit einem *Protoplasma von gleichem kolloidalen Aufbau*, aber mit einem schwankenden Energieverbrauch, der von der absoluten Größe der Tiere abhängt und um so größer wird pro Einheit der Lebenssubstanz, je kleiner die Tiere überhaupt sind.

Außerdem macht jeder Säuger intra- und extrauterin ein Massenzunahme durch, bei dem er in runder Zahl etwa das 20fache des Geburtsgewichtes erreicht, mit der Variation des Gewichtes ebenso eine Änderung seines Energieverbrauches (im Ruhezustand) aufweist, wie ausgewachsene Tiere verschiedenen Gewichtes, *aber in jedem Stadium der Entwicklung einen wechselnden mit dem Alter der Entwicklung abnehmenden Wassergehalt aufweist*.

Das sind in Kürze die nackten Tatsachen, welche einer Erklärung zugeführt werden sollen.

Wenn man alle Tiere so ordnet, daß man eine Reihe der Entwicklung eines Tieres zugrunde legt und dazu je ein *ausgewachsenes* Tier derselben Größe bzw. desselben Gewichtes aussucht, so würden wir bei beiden dieselbe Reihe fallenden Energieverbrauches mit zunehmender Größe der Tiere finden, von denen je eines jung und wasserhaltig, das andere wasserarm und ausgewachsen ist.

Daß der Energieverbrauch bei Groß und Klein ein Vorgang ist, der sich beim Säuger aus Anpassung an funktionelle Bedürfnisse (Wärme-

verlust) erklärt, wurde schon oben gesagt. Funktionelles Bedürfnis bedeutet, daß es sich um eine Änderung (nervöse oder dergleichen) der Leistungen des Protoplasmas handelt, ohne welche der Organismus nicht bestehen kann, weshalb die Regulationseinrichtungen (Durst) auf die Erhaltung dieses Zustandes eingestellt sind und die Nichtbefriedigung des Bedürfnisses zu krankhaften Folgen führt.

Diese Zustände bei gleichgewichtigen jungen oder ausgewachsenen Tieren bestehen, obschon das Protoplasma einen verschiedenen Wassergehalt besitzt.

Die Doppelnatur der Lebewesen, solche mit wasserarmem und solche mit wasserreichem Protoplasma, beide streng reguliert und in den Empfindungen auf eine bestimmte Grenze des Wassergehaltes eingestellt, muß einen ganz bestimmten Zweck verfolgen.

Der nächste naheliegende Gedanke wäre der, die Wirkungen der Variation des Wassergehaltes von Geweben am Tiere selbst experimentell zu studieren. Man kann beim Warmblüter den Wassergehalt der Organe künstlich erhöhen oder herabsetzen. Wenn man Zuckerlösung in das Blut spritzt, so beginnt nach *Brasol* schon nach 2 Minuten eine Verdünnung des Blutes durch Wasserabgabe aus dem Gewebe¹⁾, ähnlich, nach *Klikowitz*²⁾, nach *Münzer*³⁾ und *Magnus*⁴⁾ verhält es sich nach Einspritzung von Kochsalzlösungen. Vom Peritonealsack aus hat *Moritz* durch Einspritzung von 25 proz. Kochsalzlösung den Wassergehalt der Muskeln um 0,8 bis 3,6 Proz. geändert.

Wenn man physiologische Kochsalzlösung ins Blut spritzt, wird ein Teil im Körper zurückgehalten und später erst ausgeschieden⁵⁾, wobei es bei der Aufspeicherung der Salzlösung zu Ödemen in den Organen kommt. Die Lösungen verlassen rasch das Blut und werden ohne Ausscheidung in die serösen Höhlen im Körper deponiert, wobei der Muskel und die Haut nach *Engels*⁶⁾ relativ mehr als die anderen Organe aufnehmen. Die Muskeln betragen 42,8 Proz. des Körpers, die Haut 16,1 Proz., dabei nehmen erstere 67,9, letztere 17,7 Proz. des bei seinen Versuchen im Körper gebliebenen Wassers auf.

Diese künstlichen Variationen des Wassergehaltes sind nicht erheblich, auch liegt der Effekt, den man erzielen möchte, nicht in der Hand des Experimentators und ist außerdem ein ganz vorübergehender. Die Eingriffe, welche man zu ihrer Erzielung nötig

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol. 1884, S. 210.

²⁾ Ebendasselbst 1886, S. 518.

³⁾ Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 41, 1898.

⁴⁾ Ebendasselbst 44, 1900.

⁵⁾ *Cohnheim* und *Lichtheim*, Virchows Arch. 49, 1877.

⁶⁾ Arch. f. Pathol. u. Pharm. 50, I, 359.

hat, sind auch für den ungestörten Verlauf der Stoffwechselvorgänge nicht ganz gleichgültig.

Nach *Pernice* und *Scagliosi* findet man nach starker Wasserentziehung eine allgemeine Zellatrophie¹⁾, also den Beginn tiefergehender Störungen. Nach geringer und kurzdauernder Verminderung der Wasserzufuhr, von der nicht erwiesen ist, daß sie den Quellungszustand der Zellen verändert, wird eine allerdings geringe Vermehrung des Eiweißumsatzes angegeben²⁾. *Durig* hat im Laboratorium von *Exner* bei der Wasserentziehung an Fröschen festgestellt³⁾, daß, wie beim Hunger, die wichtigeren Organe auf Kosten der unwichtigeren geschützt werden, auch das Wasser der einzelnen Organe in verschiedenem Maße angegriffen wird.

Nach *Schwenkenbechers* Untersuchungen⁴⁾ wird beim fiebernden Menschen das Wasser ebenso prompt ausgeschieden wie beim gesunden. Kachektische Zustände führen häufig zu einer Zunahme des Wassergehaltes der Gewebe durch Unterernährung und unter der Erscheinung der trüben Schwellung. Die Ödeme größeren Stiles beruhen meist auf Zirkulationsstörungen u. dgl.

Die Lösung der Frage kann man nicht am Tier selbst ausführen, sondern am besten an einem einzelligen Wesen, dessen Lebensweise uns genau bekannt ist. Dazu kann die Alkoholhefe dienen⁵⁾. Ich habe an ihr ausführliche Versuche über die Rückwirkung der Plasmolyse auf Gärung und Wachstum angestellt, indem ich den Wassergehalt der Hefe durch Kochsalzlösung systematisch variiert habe. Wird man die Ergebnisse auch nicht unmittelbar auf das Tier übertragen können, so steht doch zu erwarten, daß wir eine sichere Vorstellung über die Wirkung verschiedenen Wassergehaltes bekommen.

Die Plasmolyse tierischer und pflanzlicher Zellen hat eine sehr wichtige Rolle für die Erkenntnis der osmotischen Vorgänge im allgemeinen gespielt. Die Versuche haben sich fast ausnahmslos mit den morphologischen Veränderungen beschäftigt oder mit den osmotischen Druckverhältnissen und der Wanderung von Stoffen durch die Zellwand.

Für den Biologen liegt das Interesse aber mehr in der Richtung funktioneller Äußerungen der Zellen, daß solche vorhanden sein müssen. lehren ja schon die hochgradigen morphologischen Unterschiede, ihr Nachweis wurde aber bis jetzt systematisch nicht geführt.

Ich werde mich im nachfolgenden zunächst mit den Gärungsvorgängen unter Ausschluß des Wachstums der Zellen beschäftigen.

¹⁾ Virchows Arch. 139, 1895.

²⁾ Straub, Zeitschr. f. Biol. 38, 537, N. F. 20.

³⁾ Pflügers Arch. 85 u. 87, 1901.

⁴⁾ Arch. f. exper. Pathol. u. Ther. 105, 203, 1906.

⁵⁾ Siehe auch Rubner, Die Ernährungsphysiologie der Hefezellen.

Die Gärung wurde mittels der von mir angegebenen Mikrokalorimeter bestimmt, weil diese Methode allein für jeden Zeitmoment eine Messung der Gärungsarbeit der Hefe gestattet.

Veränderungen der Zusammensetzung der Hefezelle bei der Plasmolyse.

Die morphologischen Änderungen der Hefe bei der Plasmolyse sind leicht festzustellen und mögen kurz erwähnt sein.

Gesättigte Kochsalzlösung = 36 Proz. Die Hefezellen erscheinen kleiner, doppelt kontrahiert; Vakuolen verschwinden, das Protoplasma hat sich von der Zellwand zurückgezogen und ist nicht mehr so hell wie bei einer intakten Hefezelle.

Halbgesättigte Kochsalzlösung = 18 Proz. Dasselbe Bild, jedoch schwächer ausgeprägt.

Viertelgesättigte Kochsalzlösung = 9 Proz. Noch schwächer.

Achtelgesättigte Kochsalzlösung = 4,5 Proz. Bei dieser Konzentration scheint die Grenze zu liegen.

Destilliertes Wasser. Umgekehrtes Verhalten: Die Zellen sind sehr groß, mit ganz großen Vakuolen.

Zunächst sollten die chemischen Veränderungen in der Zusammensetzung der Hefe bei verschiedenen Konzentrationen an Kochsalz festgestellt werden. Gute Preßhefe wurde in bestimmten, auch in den späteren Versuchen eingehaltenen Mengen in Kochsalzlösungen bestimmten Gehaltes gebracht, dann weiter behandelt.

	Trockensubstanz Proz.	Wasser Proz.
Hefe in 2 Proz. Kochsalz 24 Stunden, dann ab- zentrifugiert und auf eine Tonplatte ausge- strichen, gibt	35,64	64,36
Bei 4 Proz. Kochsalz	42,24	57,76
„ 8 „ „	51,77	48,23
„ 16 „ „	58,83	41,17

Die Hefe wird um so heller nach dem Trocknen, je konzentrierter die Kochsalzlösung war.

Mittel zweier Reihen, wenn Hefe direkt zu Salzlösung gebracht wird:

	Trockensubstanz Proz.	Wasser Proz.
Bei 2 Proz. Kochsalz	34,06	65,94
„ 4 „ „	46,10	53,90
„ 8 „ „	55,56	44,44
„ 12 „ „	56,66	43,34

Die Trockensubstanz hat

6,9 Proz. N
6,9 „ „
6,7 „ „
6,6 „ „

Die angewandte Hefe enthält

2,35 g N
3,18 g „
3,72 g „
3,75 g „

Mit dem vorhergehenden Versuch kombiniert:

		Trockensubstanz		Wasser	N-Menge
		Proz.	Proz.	Proz.	g
Bei 2 Proz.	{	34,06 35,64	{ 34,85	65,15	2,40
" 4 "	{	46,10 42,24	{ 44,17	55,83	3,05
" 8 "	{	55,96 51,77	{ 53,86	46,34	3,59
" 12 "	{	50,66	50,66	43,34	3,79
" 16 "	{	58,83	58,83	41,17	3,88

Aus diesen Zahlen läßt sich nunmehr berechnen, wieviel Wasser in den Hefezellen auf 1 g N vorhanden war.

Es finden sich:

Bei 2 proz. Kochsalzlösung	27,7 g Wasser
" 4 " " "	17,5 g "
" 8 " " "	12,5 g "
" 12 " " "	11,6 g "
" 16 " " "	10,6 g "

Es tritt demnach mit der Zunahme des Kochsalzes in der Lösung fortlaufend auch eine Verschiebung von Wasser in den Zellen ein, die bei schwächeren Konzentrationen in den morphologischen Verhältnissen, von destilliertem Wasser abgesehen (siehe oben S. 207), keinen Ausdruck gefunden hat.

Da ich bei den Betrachtungen über die Verhältnisse der Wasserquelle bei den Säugern stets den Quellungsgrad des Proteins zum Vergleich genommen habe, wird es angebracht sein, auch hier den gleichen Zahlenausdruck anzuwenden. Aus den Werten (s. oben) berechnet man den Proteingehalt, indem die N-Zahlen mit 6,25 multipliziert werden, hierzu wird dann das gefundene Wasser addiert und aus der Summe das Verhältnis von Protein und Wasser abgeleitet. Man findet dann:

	Protein	Wasser	Protein
Bei 2 Proz. Kochsalz .	15,0	+ 65,15	= 80,15 = 18,7 Proz.
" 4 " " " .	19,6	+ 55,83	= 74,89 = 25,4 "
" 8 " " " .	22,42	+ 46,34	= 68,76 = 32,66 "
" 12 " " " .	23,69	+ 43,34	= 67,03 = 35,34 "
" 16 " " " .	24,25	+ 41,17	= 65,42 = 37,07 "

Die Hefe hat also schon bei 2 Proz. Kochsalz einen Trockengehalt an Protein, der einer Zelle eines neugeborenen Säugers nahe kommt, bei 8 Proz. ist nahezu ein Maximum erreicht, denn bei 12 und 16 Proz. Kochsalz nimmt der Trockengehalt der Zelle nur unwesentlich mehr zu.

Die gleichen Versuche wie hier mit nicht gärender Hefe in Salzlösungen wurden dann noch angestellt mit Hefe, die in 10 Proz. Traubenzucker mit den entsprechenden Mengen von Kochsalz versetzt war. Wachstum war ausgeschlossen. Man hätte annehmen können, daß hier wegen des Zuckerzusatzes die plasmolytische Einwirkung noch kräftiger sich geäußert hätte als bei einfacher Salzlösung. Doch ist aus meinen früheren Versuchen an Hefe bekannt, daß diese auch bei hoher Zuckerkonzentration diese nicht eindringen läßt und jedenfalls kein Zeichen einer morphologischen plasmolytischen Veränderung aufweist. Man beachte aber, daß zu Ende des Versuches oder annähernd nach Ablauf der Gärung der Zucker aus der Lösung schon verschwunden ist, weshalb die Zahlen mit der vorigen Reihe vergleichbar bleiben, wenn auch natürlich an Stelle des Zuckers die entsprechende Menge Alkohol getreten ist. Die Ergebnisse waren aber andere als man vermuten konnte.

Salzgehalt der Lösung Proz.	Trockengehalt der Hefe Proz.	Wassergehalt Proz.	In der Trocken- substanz N Proz.	N-Menge d. Hefe absolut g
0	34,06	65,94	4,82	1,64
2	44,86	55,15	4,6	2,06
4	48,07	51,93	4,6	2,22
8	51,96	49,04	5,55	2,89
12	60,59	39,41	5,80	3,51

Auf 1 g N trifft also Wasser bei einem Salzgehalt von:

0 Proz.	40,18 g
2 „	26,8 g
4 „	23,1 g
8 „	16,9 g
12 „	11,2 g

Auf Protein und Wasser gerechnet:

Salzgehalt Proz.	Protein	Wasser	Summe	Protein Proz.
0	10,25	+ 65,94	= 76,20	= 13,4
2	12,9	+ 55,15	= 68,0	= 18,9
4	13,8	+ 51,9	= 65,7	= 21,0
8	18,1	+ 49,0	= 67,1	= 26,1
12	21,9	+ 39,4	= 61,3	= 35,7

Nunmehr bedarf es noch des Vergleiches der Wirkung der Hefe der Plasmolyse auf die Hefe im gärenden und nicht gärenden Zustande.

Der Prozentgehalt an Protein in der Hefe wurde gefunden:

Salzgehalt Proz.	Im nicht gärenden Zustande Proz.	Im gärenden Zustande Proz.	Salzgehalt Proz.	Im nicht gärenden Zustande Proz.	Im gärenden Zustande Proz.
0	—	13,4	8	32,66	26,1
2	18,7	18,9	12	35,34	35,7
4	25,4	21,0	16	37,07	—

Die Zahlen zeigen, daß schon die 4 proz. Kochsalzlösung eine Änderung in der Wasserverteilung in der Hefe hervorruft, ferner, daß *die gärende Zelle einen höheren Wassergehalt sich zu bewahren vermag, wie die nicht gärende Hefe*, daß ferner in einer 12 proz. Kochsalzlösung zwischen gärender und nicht gärender Hefe kein Unterschied mehr vorhanden ist.

Eine Erklärung für den letzten Punkt finden wir im nachfolgenden.

Verlauf der Gärung.

Nunmehr beschäftigen wir uns mit den Ergebnissen über den Verlauf der Gärung bei verschiedenem Kochsalzgehalt, d. h. bei verschiedenem Gehalt der Zellen an Wasser.

Ich brauche nur noch einmal auf die Tabelle S. 209 zu verweisen, wo wir sahen, daß auf 1 g N

bei 0 Proz.	40,2 g
„ 2 „	26,8 g
„ 4 „	23,1 g
„ 8 „	16,9 g
„ 12 „	11,2 g

Wasser treffen.

Die Versuche wurden so angestellt, daß in eine Stammlösung von 10 Proz. Traubenzucker das Kochsalz zur Herstellung der verschiedenen Konzentrationen direkt eingetragen wurde. Die Ergebnisse der Tabelle bedeuten Grammkalorien pro 2 Stunden berechnet. Nach meinen früheren Versuchen mit Hefezellen hat sich zeigen lassen, daß die Gärung allemal aus zwei Vorgängen sich zusammensetzt: Aus der Wirkung des präformierten Fermentes und dem vitalen Prozeß der Zuckerspaltung. Beide Vorgänge lassen sich trennen. Ich habe aber hier darauf verzichtet, da es sich um Parallelreihen mit derselben Hefesorte handelt, soweit Ferment in Betracht kommt, die Verhältnisse also dieselben sind. Wir werden später auf die Fermentwirkung noch besonders eingehen.

In nachfolgender Tabelle I sind zwei Versuchsreihen eingetragen mit 2, 4, 8 Proz. Kochsalzzusatz. Bei Versuch 2 findet man zwischen Normal, 2 Proz. und 4 Proz. Kochsalz keinen Unterschied in der Gärung, obschon (siehe oben) dabei der Wassergehalt der Hefezellen sich merk-

lich verändert hat, was seinen Wassergehalt anlangt, dagegen ist die Gärung bei 8 Proz. zwar vorhanden, aber völlig verändert, sie setzt, statt stürmisch zu sein, ganz schwach ein und erreicht noch eine mäßige Höhe, dehnt sich aber dann lange hin, wenn die Normallösung schon längst ausgegoren ist.

Tabelle I.

Grammkalorien pro 2 Stunden.

Versuch 2. 10 g Hefe, 250 ccm Wasser, Versuch 3. 10 g Hefe, 250 ccm Wasser,
Traubenzucker 10 Proz. Traubenzucker 10 Proz.

Zeit	Ohne Salz	4 Proz. Salz	2 Proz. Salz	8 Proz. Salz	Zeit	Ohne Salz	4 Proz. Salz	2 Proz. Salz	8 Proz. Salz
0—2	705,5	737,0	540,8	78,8	0—2	528,4	399,1	376,8	66,8
2—4	506,2	462,6	457,2	104,8	2—4	466,9	436,8	516,6	56,9
4—6	501,5	506,0	419,9	251,6	4—6	433,6	421,0	347,7	268,4
6—8	386,7	408,9	223,6	165,9	6—8	376,2	371,1	339,7	151,3
8—10	205,0	237,0	243,0	215,0	8—10	258,9	233,7	207,7	123,8
10—12	117,5	83,0	84,2	148,0	10—12	20,0	122,5	106,9	123,8
12—14	75,3	—	—	146,1	12—14	20,2	20,4	35,0	113,5
14—16	75,3	—	—	158,8	14—16	22,0	0	0	126,2
16—18	14,0	—	—	138,5	16—18	0	—	—	109,3
18—20	0	—	—	112,9	18—20	—	—	—	68,0
20—22	0	—	—	108,6	20—22	—	—	—	51,0
22—24	100	8,3	12,4	108,6	22—24	—	—	—	51,0

Analog verläuft der Versuch 3, nur scheint hier bei 2 und 4 Proz. anfänglich eine geringe Hemmung vorzuliegen. Solche Unterschiede kommen nach meinen Erfahrungen aber auch sonst einmal vor. Immerhin stimmt aber mit einer Hemmung doch wieder das Hinausschieben der Vergärung um einige Stunden überein. Bei 8 Proz. Kochsalz haben wir genau die Verhältnisse wie bei Versuch 2. Starke Hemmung zu Anfang, Maximum in der 4. bis 6. Stunde, aber kaum halb so hoch, wie bei der normalen Kontrollprobe in der 0 bis 2. Stunde. Von einem Fall (4 Proz. Kochsalz) ausgenommen, steigt bei jeder Salzgabe die Wärmebildung anfänglich langsamer, wie in der Kontrolle ohne Salz, das prägt sich noch besser wie in den Zahlen in der Kurvendarstellung aus (Abb. 1 und 2). Das weist auf bestimmte Einwirkung des Salzes auf das Alkoholferment hin. Die Gesamtleistungen der Hefe in 24 Stunden war in Grammkalorien für Versuch 3:

bei 0 Proz. Salz	. . .	2098 g/Kal
„ 2 „ „	. . .	1924 „
„ 4 „ „	. . .	2004 „
„ 8 „ „	. . .	1400 „

Bei 8 Proz. ist die Leistung pro 24 Stunden wesentlich geringer, als bei 0 bis 4 Proz. Kochsalz, aber es wäre denkbar, daß in 48 Stunden bei 8 Proz. Kochsalz doch noch die Gesamtleistung gleich der normalen

Kontrollprobe wurde. Das bedarf also einer ergänzenden Untersuchung. Weiter habe ich mit 8 Proz. Salz die Grenzen der stärksten Plasmolyse noch nicht erreicht. Was geschieht, wenn man den Hefezellen nicht nur die Hälfte, sondern mehr, bis drei Viertel ihres Wassers wegnimmt? Hierüber gibt nachstehende Tabelle II Aufschluß.

Tabelle II.

g-Cal pro 2 Stunden. 10 g Hefe 250 cem Wasser, Traubenzucker 10 Proz.

Zeit	Ohne Salz	8 Proz. Salz	12 Proz. Salz	16 Proz. Salz	Zeit	Ohne Salz	8 Proz. Salz	12 Proz. Salz	16 Proz. Salz
0—2	417,4	100,9	0	0	0—2	335,8	48,5	0	0
2—4	302,0	137,8	0	0	2—4	432,5	99,7	0	0
4—6	562,0	122,8	15,2	0	4—6	704,0	80,6	0	0
6—8	416,0	139,0	15,2	0	6—8	435,5	56,3	33,5	0
8—10	415,0	139,0	45,9	37,0	8—10	112,1	138,4	45,5	18,7
10—12	50,0	136,4	45,9	37,3	10—12	53,0	104,3	45,5	6,0
					12—14	55,8	95,4	45,5	6,0
					14—16	35,6	95,4	45,5	6,0
					16—18	8,7	110,3	45,5	0
					18—20	15,8	134,7	45,5	0
					20—22	15,8	107,2	26,0	0
					22—24	15,8	95,0	26,0	0
					24—26	8,3	83,2	26,0	0
					26—28	8,3	83,2	26,0	0
					28—30	8,3	83,2	26,0	0
					30—32	0	89,4	20,0	0

Die Versuchsreihe beginnt mit 8 Proz. Salz und steigt bis 16 Proz. Ersterer Versuch stimmt in den Grundzügen mit den Ergebnissen der früheren 8-Proz.-Reihen überein. Bei 12 Proz. Kochsalz kommt es aber erst in der 4. bis 6. Stunde zu einer ganz kümmerlichen Wärmebildung. Bei 16 Proz. bleibt die Gärung überhaupt aus, denn die wenigen Grammkalorien in der 8. bis 12. Stunde bedeuten nichts. Der andere Versuch wurde bis zur 32. Stunde fortgeführt. Er zeigt für die 8-Proz.-Reihe das gleiche Bild, wie die drei bisher mitgeteilten Reihen (siehe Abb. 3 und 4). Vielleicht ist es am besten, wenn ich aus den vier Versuchen mit 8 Proz. Kochsalzzugabe das Mittel bilde, da dann kleine Zufälligkeiten leichter auszuschließen sind. Die Mittelwerte für 8 Proz. Kochsalz sind dann:

Zeit	0—2	2—4	4—6	6—8	8—10	10—12	12—14	14—16	16—18
Cal	76	100	181	128	154	128	88	125	119
Zeit	18—20	20—22	22—24	24—26	26—28	28—30	30—32	32—34	
Cal	108	89	88	83	83	83	83	0	

Die 8-Proz.-Kochsalzprobe kommt in ihrer Gärung schließlich zu Ende, ohne daß aller Zucker aufgebraucht ist. Nunmehr ist es am Platze über die Gesamtgärwirkung auf Grund dieser längeren Versuche

eine Zusammenstellung zu machen. Im ganzen wurden an Gramm-kalorien erhalten:

bei der Kontrolle	2232 g/Cal
„ 8 Proz. Kochsalz.	1504 „
„ 12 „ „	456 „
„ 16 „ „	37 „

Die Gärwirkung hat bei 8 Proz. Kochsalz von 100 der Normal-lösung abgenommen auf 67,4, bei 12 Proz. Kochsalz auf 20,4, bei 16 Proz. auf 16.

Mit den Versuchen S. 211 kombiniert, ergibt sich:

Ohne Kochsalz.	2168 g/Cal
bei 2 Proz. Kochsalz.	1924 „
„ 4 „ „	2004 „
„ 8 „ „	1452 „
„ 12 „ „	456 „
„ 16 „ „	37 „

Vergleicht man das Ergebnis der Gärung mit der Veränderung des Protein- und Wassergehaltes der Hefezellen, so kann man sagen:

Sie zeigen normale Gärung bei einer Mischung von 13,4 Proz. Protein und 89,6 Proz. Wasser.

Die Verhältnisse bleiben unverändert bis zur Mischung von 21,0 Proz. Protein und 75,0 Proz. Wasser.

Eine späte, langsame und verringerte Gärung bei 26,0 Proz. Protein und 73,9 Proz. Wasser.

Spuren von Gärung bei 35,7 Proz. Protein und 64,3 Proz. Wasser.

Ohne Gärung bei 37,1 Proz. Protein und 62,9 Proz. Wasser.

Der Spielraum für die normale Gärung ist also recht groß, aber doch nicht so bedeutend wie der wechselnde Wasserreichtum bei den Warmblütern, d. h. Säugetieren, während ihrer intrauterinen Entwicklung, wobei die Zellen noch viel wasserhaltiger sein können. Die Leistungsfähigkeit der Hefe ist innerhalb ziemlich weiter Grenzen vom Wassergehalt derselben unabhängig. Was die Gärung anlangt, kann ein erheblicher Teil des Wassers entbehrt werden und läßt sich ohne Schaden aus der Zelle durch Osmose entfernen, während die Quellung des Protoplasmas zurückgeht.

Wird der Zustand, wie er bei 4 Proz. Kochsalz gegeben ist, im Sinne weiterer Wasserentziehung überschritten, dann nimmt die Gärkraft rasch ab. In keiner Zeit ist eine solche Zelle imstande, ein Maximum der Wirkung auf der Höhe der Zellen, die in einer geringerprozentigen Kochsalzlösung sich befinden, zu erreichen.

Bei 8 Proz. findet man eine lange Latenz bis die Gärung überhaupt beginnt, was dafür spricht, daß die rapide Entziehung von Wasser aus der Zelle vor der Gärung anhebt. Diese Latenz ist um deswillen

besonders bemerkenswert, weil trotz Störung der vitalen Verhältnisse wenigstens die Gärung, soweit sie auf vorgebildetes Ferment sich bezieht, eintreten sollte. Das ist aber in keinem Versuch geschehen, weshalb man schließen muß, daß das Ferment bei Gegenwart von Kochsalz unwirksam bleibt oder an die vitalen Teile zurückgenommen wird.

Die Einwirkung des Kochsalzes höherer Konzentration als Schädigung und Störung könnte so aufgefaßt werden, daß bis 16 Proz. die Hefezelle in ihrer Struktur und Lebensfähigkeit dauernd geschädigt bleibt. Die plötzliche Plasmolyse hat in der Tat, wie ich in bisher nicht veröffentlichten Versuchen, die ein paar Jahrzehnte zurückliegen, bei den vegetativen Formen einer Reihe pathogener Keime beobachtet habe, einen geradezu sterilisierenden Einfluß, während allmähliche Steigerung einer plasmolytischen Konzentration ohne Schaden ertragen wird.

Aus diesen Überlegungen war es geboten, bei der Hefe zu untersuchen, ob stärkere plasmolytische Einwirkungen eine dauernde Schädigung der Zellen hervorrufen. Zu diesem Behufe habe ich Hefe etwa 20 Stunden im Eisschrank bei 2, 4, 8, 16 Proz. Kochsalzgehalt stehen lassen, wobei sie sich absetzt, dann wurde die Flüssigkeit abgegossen, mit Wasser angerührt, zentrifugiert und jetzt die Hefe in 10 proz. Traubenzuckerlösung aufgenommen und bei 28° gären gelassen. Das Resultat der Gärung war folgendes: Die Zellen, welche wie jene, die

Tabelle III.

Je 10 g Hefe, 20 Stunden in Salzlösung im Eisschrank, dann Salz entfernt und mit Zucker versetzt. Grammkalorien in 2 Stunden.

Zeit Stunden	Vorher in 2 Proz. Salz	Vorher in 4 Proz. Salz	Vorher in 8 Proz. Salz	Vorher in 16 Proz. Salz
0—2	371,5	535,4	584,0	663,9
2—4	338,2	525,0	581,1	491,4
4—6	535,9	466,9	435,0	452,0
6—8	439,0	436,8	382,6	399,1
8—10	332,0	344,6	318,5	374,5
10—12	252,9	292,3	258,3	301,4
12—14	200,5	188,1	181,8	153,4
	2470,3	2789,1	2741,3	2835,7

in 8 Proz. Kochsalz eine geschwächte, oder wie jene in 16 Proz. Kochsalz sonst gar keine Gärwirkungen ergeben haben, zeigen diese Eigenschaften nicht, weil sie etwa eine dauernde Schädigung erlitten haben. Die durch starke Plasmolyse erzeugte Veränderung, die sich ja in beiden Fällen morphologisch nachweisen läßt, ist *völlig reversibel*. Hefen, die in 8 und 16 proz. Salzlösung fast einen Tag gelegen haben, haben eine kräftige, stark einsetzende Gärung. Von allen vier Hefeproben war die

in 2 Proz. Kochsalz liegende offenbar die schwächst wirkende. Höchstwahrscheinlich spielte bei dieser Probe der Umstand mit, daß das Liegen in 2 proz. Kochsalzlösung die Autolyse nicht gehemmt hat, daß also beim Weggießen des Wassers (siehe oben) etwas von den autolytischen Produkten, die sonst schnell wieder durch die Gärung regeneriert worden wären, verloren gegangen ist. Unverkennbar sind die Werte der Gärung für die ersten zwei Stunden von 4 zu 8 und zu 16 Proz. Kochsalz im Steigen. Die letzte Probe zeigt am ausgeprägtesten den Typ einer Hefe mit reichlich Ferment.

In 14 Stunden wurde in Grammkalorien entwickelt:

Hefe vorher in 2 Proz. Kochsalz	24703 g/Cal
4 Proz. Kochsalz	27891 "
8 Proz. Kochsalz	27413 "
16 Proz. Kochsalz	28257 "

Die letzten drei Proben lassen also eine Verschiedenheit der Gärkraft überhaupt nicht erkennen. Ich habe noch die Frage zu erörtern, ob das Kochsalz in größeren Mengen auch imstande ist, auf die Fermentwirkung der Zymase einen Einfluß auszuüben. Mehrfach wurde schon die Möglichkeit oder Wahrscheinlichkeit eines solchen Einflusses berührt. Es gelingt nicht immer, Hefen mit reichlichem Zymasegehalt zu erhalten. Bei einigen Experimenten war der Zymasegehalt so gering, daß die Einwirkung der Kochsalzkonzentrationen gleichmäßig hemmend erschien. Durch Zufall bekam ich aber gelegentlich eine für diese Zwecke sehr geeignete Hefe in die Hand, deren Fermentwirkung selbst in der 8. Stunde des Versuches noch nicht beendet war.

10 g Hefe + 250 ccm 10 proz. Traubenzuckers mit Toluol (a) und verschiedenem Kochsalzgehalt behandelt, zeigt schon bei 2 Proz. Gehalt an NaCl (b) eine Verlängerung der Fermentwirkung auf spätere Stunden. Bei 4 Proz. (c) war die Fermentwirkung ganz stark abgeschwächt, ob-



Abb. 1.

schon dabei die vitale Wirkung der Hefezelle noch nicht gelitten hat, bei 8 Proz. Kochsalz (d) war die Fermentwirkung im Maximum etwa $\frac{1}{10}$ der bei normaler Hefe ohne Kochsalzzusatz gefundenen Wirkung. Die vorstehende Kurve (Abb. 1) gibt das erhaltene Ergebnis in graphischer Darstellung.

Das Studium an der Hefezelle hat also die Möglichkeit ergeben, die plasmolytischen Einwirkungen näher kennenzulernen. Innerhalb einer bestimmten Grenze zwischen 13,4 Proz. Protein und 21,0 Proz. haben wir gesehen, daß der Gesamtstoffwechsel der Zelle und die Gärung unverändert bleibt. Die Quellung von 21 Proz. Protein bis herab auf 13,4 Proz. Protein führt zur Einlagerung von Wasser in das Kolloidsystem der Zelle und stört die allgemeine Funktion des Stoffwechsels nicht, woraus auch wieder zu schließen ist, daß das arbeitende Protoplasma nicht in direkten Konnex mit den neu hinzutretenden Wassermolekülen kommt. Es ist also disponibles Wasser unter Umständen vorhanden, dessen Abgabe völlig belanglos für die Gärung erscheint.

Bei der Überschreitung des Gehaltes von 21 Proz. Protein folgen offenbar bald die störenden Einwirkungen, die die Stundenleistung und Fermentwirkung verändern. Man denkt bei diesen Erscheinungen an die Dursterkrankung der Säugetiere; eine Zelle, die übrigens so minderwertig wird, daß sie nur $\frac{2}{3}$ des normalen leistet, wie das bei einer Hefe geschieht, die in 8 Proz. Kochsalz sich befindet, wäre mit der Lebenserhaltung eines Säugers unvereinbar.

Wir sehen also bei den Einzelligen, der Hefe, Variationen des Wassergehaltes, ohne Rückwirkung auf die Leistung, wie man dies auch schon wenigstens im intrauterinen Leben des Säugers nachweisen kann. Bei der Hefe ist der schwankende Wassergehalt eine Erscheinung, die vom Zufall abhängig sein wird, unter Umständen wird sie Material zur Gärung finden, aber auch Bedingungen, die einen Eingriff in ihren kolloidalen Aufbau zur Folge hat. Für ihr Fortkommen wird es nur zweckmäßig sein, wenn sie sich den verschiedenen Verhältnissen anpassen kann.

Das Wachstum.

Wir kommen damit der uns interessierenden Frage näher, was der Wechsel im Wassergehalt in der Entwicklung bedeutet.

Wir dürfen nie vergessen, der Wechsel im Wassergehalt ist nur während der Entwicklungsperiode und überall, wo man danach suchte, gefunden worden, der nächste Schluß muß der sein, daß irgend eine Beziehung zwischen den Wachstumsmöglichkeiten und dem Wassergehalt besteht.

Ich habe daher eine Reihe von Untersuchungen über die Wirkung der Plasmolyse auf das Wachstum der Hefezelle angestellt. Als Nährboden diente zentrifugierte Bierwürze, der wechselnde Mengen von Kochsalz zugesetzt worden waren. Geimpft wird am besten aus einer Reinkultur, da das Kochsalz bei Anwendung von Mischkulturen, wie es die gewöhnliche Hefe darstellt, die einzelnen Arten verschieden beeinflußt.

Angewandt werden 1 ccm einer Hefeaufschwemmung von 1 g Hefe auf 250 ccm Flüssigkeit als Impfung.

Zum Teil wurden die Ernten gewichtsanalytisch bestimmt unter Feststellung des Stickstoffgehaltes und ergaben die frühzeitige Hemmung des Wachstums innerhalb der Grenzen der Plasmolyse, welche für die Gärung ganz wirkungslos ist. Zum Teil habe ich neben den Ernten auch die Wärmebildung gemessen, diese Versuche sind übersichtlicher und markieren den Einfluß der Plasmolyse auf das Wachstum am deutlichsten. Ich gebe daher die graphische Darstellung einer solchen Vergleichung der Wirkung verschiedener Kochsalzkonzentrationen. Von den mit Salz versetzten Proben haben nur die mit 2 und 3 Proz.

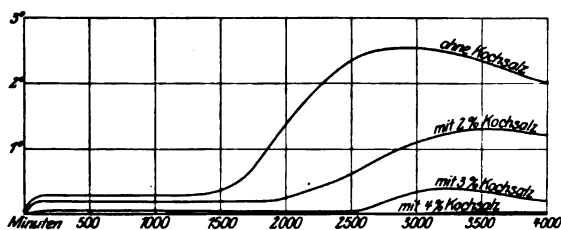


Abb. 2.

eine während der Versuchsdauer von 5 Tagen deutliche Zunahme der Gärung erkennen lassen, bei 6 Proz. bewegt sich die Wärmebildung innerhalb weniger Zehntel Grad. Nimmt man einen allen drei Kurven (Normal, 2 oder 3 Proz. Kochsalz) gemeinsamen Höhepunkt der Wärmebildung, z. B. 0,20° Wärmezuwachs, so erreicht die Kontrolle diese Stärke der Gärung in 1550 Minuten, die Probe in 2 Proz. Kochsalz in 2250 Minuten und die mit 3 Proz. in 3150 Minuten, die Verlangsamung zwischen Normal und 2 Proz. war also dem Unterschied der Zeiten entsprechend die 1,45fache und zwischen 2 und 3 Proz. gleichfalls das 1,40fache und zwischen Normal und 3 Proz. das 2,03fache, d. h. die Wachstumsintensität war nur mehr die Hälfte des Normalen. Der Unterschied im Wassergehalt der Hefe zwischen Normal und 3 Proz. Kochsalz bewegt sich zwischen 13,4 Proz. Trockensubstanz und 86,6 Proz. Wasser, 19,9 Proz. Trockensubstanz und 80,1 Proz. Wasser.

Für die vorliegenden Fragen haben die Experimente also gezeigt, daß im Wachstum schon innerhalb der Grenzen, innerhalb deren nicht die geringste Störung des Gärvermögens eingetreten ist, eine Verringerung der Intensität im Verhältnis zur Gärleistung ausgesprochen ist.

Die Bedingung, welche die Wachstumstätigkeit verringert, liegt in der Entwässerung der Zelle, die Minderung des Quellungszustandes hemmt also einseitig den Aufbau von Eiweiß und die Teilung der Zellen. Es kann demnach dasselbe Protoplasma, je nachdem es stärker oder weniger stark gequollen ist, ganz verschiedene Stoffwechselvorgänge

zeigen. Wenn wir von der Einwirkung auf die Zymase ganz absehen, so haben wir *wechselnde Quotienten zwischen Wachstumsansatz und Kalorienumsatz*, bis steigende Konzentration von Kochsalz die Gärung selbst beeinflußt und diese abnimmt. Die Wasserarmut des Protoplasmas erscheint also unter allen Umständen wachstumshindernd, womit aber keineswegs gesagt wäre, daß die endgültige *Verwertung des Nährmaterials* (Ausnutzung des Nährbodens) in gleichem Sinne herabgesetzt wäre, einige Versuchsreihen lassen sogar den Schluß zu, daß die Nährstoffausbeute durch die gelinde Salzzugabe und durch die gelinde Wasserentziehung zwar stark verlangsamt aber nicht nachteilig beeinflußt wurde. Bei verringertem Wachstumsansatz in der Zeiteinheit kann durch die Länge der Wachstumszeit zwar quantitativ manches ausgeglichen werden, aber ein Nachteil bleibt doch. Wie schon oben erwähnt, Überwiegen der Gärung bedingt natürlich Zunahme des Alkoholgehaltes durch den Betriebsstoffwechsel und Hemmung des Wachstums durch Alkohol. Doch können diese Fragen für die vorliegende Feststellung plasmolytischer Vorgänge und Änderung des Quellungszustandes außer Betracht bleiben.

Zusammenfassend war die Einwirkung auf das Wachstum folgende:

Wachstum bei 0 Proz. Kochsalz	=	100
„ „ 2 „ „	=	42,8
„ „ 3 „ „	=	12,4
„ „ 4 „ „	=	0

Da die Gärung, d. h. der Betriebsstoffwechsel, innerhalb der Grenzen nicht leidet, kann man bei Plasmolyse ganz verschiedene Relationen zwischen Stoffwechsel und Wachstum herstellen.

Aber vielleicht können wir vorläufig darüber hinwegsehen, wie der Mechanismus der Entwässerung beim Säuger und dem Tier überhaupt verläuft, und wollen uns mit der Tatsache abfinden, daß sie besteht.

Dann zeigt uns der Vergleich mit der Hefe die Möglichkeit, die Ergebnisse von ihrem Stoffwechsel auf die Mehrzelligen zu übertragen, denn wir haben bei der Hefe eben gesehen, wie selbst weitgehende Veränderungen des Wassergehaltes ohne Einfluß auf die Intensität der Gärprozesse bleiben. Der Gärprozeß, der ja für die Hefe nichts anderes ist, als der Energiewechsel, der hier in anaerober Form verläuft. Fast so weit, wie die Grenzen in der Variation des Wassergehaltes beim Wachstum des Warmblüters gesteckt sind, macht sich bei der Hefe eine Intensitätsschwankung pro Einheit der lebenden Substanz nicht geltend. Die Veränderungen, d. h. die Abnahme der Intensität des Energiewechsels, welche mit dem Wachstum des Warmblüters eintreten, haben mit ihrem variablen Wassergehalt der Zellen nichts zu tun, denn sie erfolgen als Prozesse, welche sich durch die Veränderungen

der relativen Oberfläche der Tiere sozusagen reflektorisch und auf eigene Veranlassung hin erst ausbilden. Wir brauchen da nicht einmal nur den Warmblüter in Betracht zu ziehen. Ich werde in einer weiteren Abhandlung zeigen, daß das hier für die Veränderung des Stoffwechsels mit der Masse Gesagte allgemein gilt, auch für Kaltblüter und Wirbellose.

Tiere, welche in gleicher Phase der Entwicklung sich befinden, zeigen auch die gleichen Erscheinungen auf ernährungsphysiologischem Gebiete, gleichen Wachstumsquotienten, d. h. gleiche Verhältnisse von Betriebsstoffwechsel zu Nahrungsgewinn. Die Wachstumsquotienten sind in den früheren Stadien der Entwicklung groß, sie haben natürlich einen Grenzwert nach oben, über den ich an anderer Stelle Näheres berichten werde, und fallen bis Null, wenn das Wachstum zu Ende ist.

Wie kommt dieser Abfall zustande und warum steht das Wachstum endlich ganz still? Hier können uns die Versuche an der Hefe weiter helfen. Wenn tatsächlich die Verschiebungen des Wassergehaltes die Relation zwischen Betriebsstoffwechsel und Wachstumsmöglichkeit ändert, wenn geringer Wassergehalt schließlich das Wachstum auf Null fallen läßt, so haben wir das Ende der normalen Entwicklung erreicht.

Die Ergebnisse der Plasmolyseexperimente an den Hefezellen lassen eine Erklärung der Wachstumsvorgänge als möglich erscheinen. Das Wachstum erscheint wie die Gärung als eine Funktion des Wassergehaltes des Protoplasmas, hochkonzentriertes Protoplasma führt zum Stillstand der Gärung, geringere Änderungen im Wassergehalt bringen eine starke Verlangsamung des Wachstums bei gleicher Temperatur zu Wege. Konzentrationssteigerungen des Protoplasmas führen diesen zu einem Wachstumsstillstand.

Schluß.

Zum Schluß des ersten Abschnittes hatte sich als Resümee ergeben, daß im allgemeinen Entwicklungsgänge jedes Individuums der Beginn des neuen Individuums mit einem reichlich wasserhaltigen Gewebe einsetzt und schnell, wenigstens bei den Säugern, mit dem gleichen Quellungs zustande endet. Dabei hat sich weiter jedenfalls ein innerhalb sehr weiter Grenzen von dem Quellungsgrad unabhängiger Energieverbrauch nachweisen lassen, während die Abnahme des Wachstums mit der Zunahme des Trockengehaltes der Gewebe, also mit der Abnahme des Wassers parallel läuft.

Weil man mit den Säugetieren künstliche Veränderungen des Wassergehaltes technisch nicht vornehmen kann, und weil biologisch jeder Wassergehalt einer bestimmten Entwicklungsperiode ohne Gefahr für Gesundheit und Leben eines Tieres gar nicht geändert werden kann, habe ich versucht, künstliche Wasserentziehungen bei Hefe-

zellen der Untersuchung zu unterwerfen, um an diesen einfachen Organismen die Rückwirkungen zu studieren, welche die Quellungsminde-
rung auf die allgemeinen Lebensvorgänge der Ernährung hat. Dies
geschah von dem Gesichtspunkte aus, daß gewisse allgemeine Züge
und Eigenschaften allem lebenden Protoplasma zu eigen sein müßten,
die nun, so entfernt ein einzelliges Wesen von einem vielzelligen sein
mag, doch gewisse Richtlinien zur Erklärung schwebender Fragen
geben können.

Die Ungleichheit der biologischen Veränderung des Wassergehaltes
im Wachstum bei den Säugern und die zwangsweise plasmolytische
Wasserverminderung bei der Hefezelle liegt auf der Hand.

Wasserreichere Gewebe können auch bei Erwachsenen auftreten,
so scheint z. B. die chronische Inanition solche Zunahmen des Wasser-
gehaltes zu erzeugen. Es ist aber bis jetzt nicht erwiesen, ob solche
Wasserablagerungen durch Quellen der Zellen oder durch Ablagerungen
von Wasser in andere Depots eintritt, oder ob beides vorkommt. Beim
Erwachsenen sind andere Fälle der Wasseranreicherung, die man auf
die Zellen beziehen könnte, nicht bekannt. Immerhin würde ein ge-
wisser Wasserzuwachs bei chronischer Inanition auch bei der Zelle nur
im Sinne erleichterten Proteinansatzes zu deuten sein, was tatsächlich
vorkommt. Vorläufig haben wir kein experimentelles Material, um die
Möglichkeit und Grade der Wasserzunahme in den Geweben zu be-
urteilen. Wasserzufuhr hat natürlich keinen Einfluß auf diese Prozesse
des Proteinansatzes, weil das Wasser durch die Niere schnell aus-
geschieden wird, ohne die Gewebe zu beeinflussen.

Bekannt ist aus der Kinderpraxis, daß im Säuglingsalter nicht
allzu selten ein Wachstumsstillstand eintritt, wenn zu wenig Wasser
gegeben wird, ja selbst ernstere Störungen, wie das sogenannte Durst-
fieber, die sofort schwinden, wenn man mehr Wasser gibt. Auch das
Wachstum setzt dann wieder ein, ohne daß es nötig wäre, mehr Milch
zu geben.

Wenn die Abnahme des Wassergehaltes der Zelle das Wachstum
hemmt, so könnte das darauf zurückgeführt werden, daß durch An-
einanderlagerung von kolloidalen Begrenzungsflächen die Möglich-
keiten der Anlagerung geringer werden. Weil aber der Stoffwechsel
und Energieverbrauch nicht herabgesetzt wird, müssen die Stellen
des Ansatzes beim Wachstum und die Berührungsstellen mit der
Nahrung beim Energieverbrauch räumlich getrennt sein, obschon sie
in einem gewissen Zusammenhang gedacht werden müssen, weil ja
die Größe des Wachstums (Ansatzes) nach meinen Untersuchungen
stets mit der Größe des Umsatzes unter vergleichbaren Verhältnissen
zusammenhängt.

Meine Untersuchungen haben wahrscheinlich gemacht, daß ein einfacher Mechanismus die Veränderungen des Stoffwechsels, die Beziehungen zwischen Energieverbrauch und Wachstum, während der Entwicklungsperiode zu erklären imstande ist.

Wo die auslösenden Kräfte sich finden, die in bestimmter Zeitfolge diese Veränderungen schaffen, hat damit keine Lösung gefunden, und dies war auch nicht das Ziel der Untersuchungen. Da man eine Reihe von Drüsen mit innerer Sekretion, welche beim Wachstum wesentlich beteiligt sind, kennt, so müßten wohl diese in irgend einem Zusammenhang mit den die Quellung beeinflussenden Bedingungen gedacht werden.

Aus dem Leben des Kaltblüters.

I. Teil: Die Fische.

Von

Max Rubner (Berlin).

(Eingegangen am 3. April 1924.)

Im Jahre 1909 habe ich in meinem Buche „Kraft und Stoff im Haushalt der Natur“ den Versuch gemacht, die Lebenserscheinungen vom energetischen Standpunkt aus zu betrachten. Ausgehend von dem Gedanken, daß Form und Gestalt viel wandelbarer sind als der Ablauf der Lebenserscheinungen vom Gesichtspunkte des Stoffwechsels und des Energieverbrauchs, habe ich die Tierreihe als etwas Einheitliches zu betrachten versucht. Mit wenigen Transformationen der chemisch-physiologischen Vorgänge wird im Tiere der Lebensprozeß den verschiedensten Formen der Entwicklung angepaßt. Neben der morphologischen haben wir auch eine Entwicklungsgeschichte des Protoplasmas und seiner Funktionen.

Diese Unitätstheorie des lebenden Protoplasmas hat sich schließlich zu einer einheitlichen Auffassung des Ablaufs des Lebens überhaupt ausgestalten lassen.

Zu diesen Untersuchungen ist später noch die Darstellung der Ernährungsphysiologie der Hefezelle gekommen, die uns über den Ablauf des Stoffverbrauchs und Wachstums bei einem einzelligen Wesen aufklärt.

Eine weite Lücke ist bislang dadurch noch geblieben, daß wir über die Kaltblüter relativ wenig wissen, so weit der Ernährungsprozeß in Betracht kommt.

Ich habe daher den Plan verfolgt, auch in die wesentlichen Lebensvorgänge bei dem Kaltblüter tiefer einzudringen, zwar zu einem definitiven Abschluß sind die Untersuchungen nicht gekommen, aber so weit gefördert, daß ein unbekanntes Gebiet doch größtenteils aufgeschlossen worden ist.

Nachstehend sollen in zwei Abschnitten einerseits die Fische, andererseits Amphibien und Reptilien behandelt werden.

Zusammensetzung, Stoffwechsel, Energieverbrauch der Fische.

Die Warmblüter sind nach ihren Lebensbedingungen uns näher stehend und deshalb nach jeder Richtung bekannter wie etwa die Poikilothermen. Was den Stoffwechsel und die energetischen Prozesse anlangt, so kann man unser Wissen bei den Warmblütern als befriedigend bezeichnen, wie andererseits die Kenntnisse vom Leben der Poikilothermen erstaunlich lückenhaft sind. Vergleichend physiologisch gesehen, ist das zu bedauern, weil die Kaltblüter vermutlich uns auch über Vorgänge bei den Warmblütern aufklären können. Vor allem scheint es wichtig, den im Wasser lebenden Organismen Beachtung zu schenken. Man kann da einwenden, daß die Fauna der Seen, Meere und Flüsse mit ihrem reichen Inhalt verschiedener Lebensformen gewiß wissenschaftlich nicht unbeachtet geblieben ist, dem läßt sich erwidern, daß zwar besonders in den letzten Jahrzehnten die Zahl der Untersuchungen auch physiologischer Art erfreulich groß waren, aber trotz alledem fehlt es uns an klaren Vorstellungen über die inneren Zusammenhänge, die sich eben aus einer noch so großen Zahl Untersuchungen nicht ableiten lassen, wenn das Grundmaterial selbst nicht allen Anforderungen entspricht.

Im allgemeinen haben wir von den kaltblütigen Wassertieren, von denen die Fische unser Hauptinteresse beanspruchen, die Vorstellung, daß ihre Ernährungsverhältnisse sehr bescheiden sind und wie die wechselnden Temperaturen des Mediums, in dem sie sich befinden, zu schwanken pflegen.

Die Trägheit der Lebensprozesse macht uns diese Tiere wenig verwendbar, denn für den Experimentator bedeutet diese Trägheit langdauernde Untersuchungszeiten, und die Kleinheit des Nahrungsverbrauchs erfordert eine Schärfe der Methoden, welche außer Verhältnis zu den Ergebnissen stehen, die ein Warmblüter in wenigen Beobachtungstagen liefern kann. Bei ihrer Bedürfnislosigkeit kommen diese Tiere über Zeiten des Nahrungsmangels leicht hinweg. Nach *Mieschers* Angaben zehrt der Reinlachs auf seiner langen Reise im Binnenland von seiner eigenen Masse, und das fast während der Dauer eines Jahres. Vielleicht ein wenig anders scheinen die Verhältnisse bei Amphibien und Reptilien zu liegen.

Das, was uns also fehlt, sind genaue biologische Feststellungen der Ernährungszustände unter bestimmten genau fixierten Verhältnissen, die uns dann die Möglichkeit bieten, auch vergleichend physiologische Betrachtungen anzustellen, welche die Beziehungen und Zu-

sammenhänge einzelner Tiergruppen unserem Verständnis näher bringen können. Unsere Kenntnis von den Lebensprozessen der Warmblüter sind die am weitesten geförderten, wir kennen auch das Leben der Einzelligen, soweit es Stoffwechsel und Energiebedarf betrifft, durch meine Untersuchungen an der Hefe, dazwischen fehlt uns aber ein gewaltiges Stück Lebens, das Gebiet der poikilothermen Wirbeltiere.

Auf Grund von Untersuchungen, deren Fortführung durch den Krieg unmöglich war und die aus verschiedenen Gründen später eingeschränkt werden mußten, will ich versuchen, wenigstens einige wichtige Grundfragen auf diesem Gebiete festzustellen. Zunächst mag mit der Betrachtung des Stoffwechsels der Fische begonnen werden.

Der Betriebsstoffwechsel der Fische.

Die Fragen, die uns hier interessieren, betreffen die Art des Stoffwechsels und die Größe des Energieverbrauchs. Die experimentellen Untersuchungen schicke ich voran. Die Arbeiten will ich zunächst mit der Frage des N-Stoffwechsels beginnen und dann in energetischer Hinsicht weiterführen.

Die Ernährungsvorgänge hängen innig mit der körperlichen Zusammensetzung der Tiere zusammen. Kost und Körperaufbau verhalten sich wie Ursache und Wirkung. Über die Zusammensetzung der Fische ist im wesentlichen das bekannt, was vom Nahrungsmittelstandpunkt von Interesse ist. Eine ausführliche Darstellung findet sich darüber gegeben von *Smolenski*¹⁾. Nur über die Extreme der Zusammensetzung des Muskels seien ein paar Zahlen meinerseits aus Analysen von *König*, *Almen*, *Popoff* und *Kostytscheff* berechnet, angeführt.

	Wassergehalt Proz.	N-Substanz Proz.	Fett Proz.	Asche Proz.
Flußaal	55,10	13,12	30,62	0,90
Lachs	65,54	20,08	12,55	1,36
Hecht	80,16	18,05	0,45	1,07
Dorsch	81,61	17,01	0,20	1,23

Was man N-Substanz nennt, ist nicht ganz gleichwertig mit den entsprechenden Substanzen des Warmblüters. Nach Angaben von *König*, *Almen* und *Kostytscheff* habe ich als Mittelzahl berechnet, wieviel Prozent von der N-Substanz auf Extrakt, Leimsubstanz und Eiweiß trifft.

¹⁾ Hyg. Rundschau 7, 1105 ff., 1897.

Von 100 Teilen N-Substanz sind in

	Extrakt Proz.	Leimsubstanz Proz.	Eiweiß Proz.
Rindfleisch	11,91	8,22	79,87
Aal	10,09	11,59	78,32
Lachs	14,38	16,56	69,06
Dorsch	15,12	20,91	63,97
Hecht	11,91	18,90	65,78

Die N-Substanz besitzt bei den Fischen nicht den physiologischen Wert des Eiweißes der Warmblüter, weil sie einerseits mehr leimgebendes Gewebe und mehr Extraktstoffe (die außerdem eine andere Natur, wie die bei Warmblütern besitzen) enthalten. Für die Brauchbarkeit der N-Substanz für energetische Zwecke kommt es auf den Gehalt an leimgebender Substanz weniger an, als auf den Extraktgehalt, der diesen etwas mindert, weil die Extraktivstoffe ziemlich unverändert in den Harn übergehen¹⁾. 1 g organische Substanz der Extraktstoffe bei Muskelfleisch vom Rinde liefert 4.162 kg/Cal. Voraussichtlich gilt dies auch für die Bestandteile des Fischfleisches.

Da die Analysen, wie sie oben angeführt worden sind, sich auf die nutzbaren Teile des Muskels beziehen, für ernährungsphysiologische Überlegungen aber die Zusammensetzung *ganzer* Tiere bekannt sein muß, hat auf meine Anregung *Inaba* derartige Analysen aus verschiedenem Tiermaterial, darunter auch an Fischen, ausgeführt, welche folgende Ergebnisse gehabt haben²⁾:

	In 100 Tln. Fisch sind Trockensubstanz Proz.	N Proz.	In 100 Tln. Trockensubstanz	
			Fett Proz.	Asche Proz.
Karausche	31,27	10,86	10,07	17,35
Bleie	24,89	10,70	18,08	16,02
Hecht	19,84	12,77	3,98	18,11
Schleie	17,96	12,27	8,21	16,03
„ verhungert	16,08	10,58	2,32	31,10

Der Mittelwert des fett- und aschefreien Tierleibes der Fische beträgt 15,94 Proz. N, er ist um wenig höher als der Wert einiger Säuger (15,14 Proz.), jener von Reptilien (Eidechsen, Ringelnattern, Blindschleichen) gab 15,29 Proz. N. Eine verhungerte junge Schleie gab 15,89 Proz. N, die junge normale 16,20 Proz. Die Verbrennungs-

¹⁾ *Bürgi*, Arch. f. Hyg. 51, 1; *Rubner*, ebendasselbst, S. 29.

²⁾ Arch. f. Phys. 1911, S. 1.

wärme der *ganzen* Tiere wurde direkt bestimmt. Für fettfreie und aschefreie (berechnete) Organsubstanz wurden gefunden:

Karassche pro 1 g	5,347
Bleie pro 1 g	5,317
Hecht pro 1 g	5,283
Schleie pro 1 g	5,391
Mittel . . .	5,309 kg/Cal.

Verhungerte Tiere zeigen weniger Verbrennungswärme (= 5,016 pro 1 g organisch) als die Warmblüter, weil bei ihnen das leimgebende Gewebe etwas überwiegt (Ossein 1 g = 5,040 kg/Cal). Die Schuppen zeigen einen niedrigen Verbrennungswert, 1 g = 5,135 (fettfrei). Im allgemeinen gibt der normale Gesamtkörper eines Tieres etwa die Verbrennungswärme (fett- und aschefrei) wie die organische Substanz des Muskels (5,345). Kleinere Schwankungen rühren meist von der Ablagerung von Glykogen her. Groß ist der Unterschied im Aschegehalt. In der fettfreien Trockensubstanz des ganzen Fischkörpers sind von *Inaba* gefunden im Durchschnitt 18,8 Proz. (verhungert 32,58 Proz.), während der Muskel rund 4,5 Proz. Asche enthält.

Die eben mitgeteilten Zahlen geben uns ein Bild über die Zusammensetzung des Fischkörpers und die analytischen Grundlagen für eine Betrachtung von Stoffwechselversuchen. Die so häufig verwendeten „approximativen“ Werte haben heute keine Berechtigung mehr, nachdem gesicherte Größen vorliegen.

Der Fischkörper bietet in dieser Hinsicht also kaum eine von den anderen Wirbeltieren abweichende Beschaffenheit, ausgenommen den größeren Gehalt an leimgebender Substanz und dem etwas größeren Extraktgehalt.

Eigenartig bleibt die *Fettarmut* vieler Spezies, die sich nahe an der Grenze einer völligen Fettverarmung, wie sie bei Warmblütern erst vor dem Hungertode eintritt, bewegt.

Selbstverständlich muß diese Eigentümlichkeit ihre Rückwirkung auf den Stoffwechsel und Energiwechsel solcher Tiere zeigen. Soweit Analysen vorliegen, scheiden auch solche fettarmen Tiere Eier mit hohem Fettgehalt (24 bis 25 Proz. der Trockensubstanz) aus, der allerdings geringer ist als jener der Vogeleier (45 bis 50 Proz.). In einer großen Zahl von Spezies kommt dem Eiweiß eine besondere Bedeutung als Nährstoff und Kraftquelle zu, sofern verschiedene Funktionen, die bei anderen Fischen und Tieren (den fettreichen) vom Fett übernommen werden, ihm zufallen, wie die Lieferung von Energie für die Arbeit, ferner die Fettbildung und Glykogenbildung.

Welche Nahrungsbedingungen zu dem merkwürdigen Aufbau fettarmer Fische führen, ist genauer nicht bekannt, aber von dem allgemeinen Verhältnis zwischen Futter- und Körperzusammensetzung wird eben bei den Fischen auch keine Ausnahme sein.

A. Versuche an Schleien (Hungerversuch).

Die Schleien gehören, was ihre chemische Zusammensetzung anlangt, zu einem Typ, der zwischen dem fettreichen und fettarmen steht. Die Untersuchungen können nach sehr verschiedenen Methoden ausgeführt werden. Für Stoffwechselversuche bleibt in vielen Fällen nichts anderes übrig als die Feststellung der Veränderung der Leibesbeschaffenheit in sehr langen Dauerversuchen, wobei dann die festen und flüssigen Abgänge im Wasser des Fischbehälters nachgewiesen werden müssen. Genau im voraus abgegrenzte Versuchsperioden kann man kaum erhalten, da Harn und Kot so sehr unregelmäßig ausgeschieden werden.

Zur Feststellung des Energieverbrauchs kann man sich auch der Feststellung des O-Verbrauchs bedienen, mit allen Einwendungen, die sich vom kalorimetrischen Standpunkt dagegen machen lassen.

Einwandfrei ist die Anwendung der Kalorimetrie, für den Fisch kommt ja als Wärmeabgabe nur die Übertragung der Wärme an das Wasser in Betracht, die Verdunstung als Wärmeverlust fällt bei ihnen weg.

P. Schütz hat in meinem Laboratorium mehrere Versuchsreihen an hungernden Fischen ausgeführt. Aus den im Arch. f. Anat. u. Physiol. 1913, S. 497 ff. aufgeführten Zahlen lassen sich bemerkenswerte Schlußfolgerungen über den Nahrungsverbrauch bei der Schleie ableiten. Das Verfahren war folgendes: Es wurden Tiere derselben Größe beschafft, einige sofort getötet und analysiert, die anderen nach eingetretenem Hungertode der Untersuchung unterworfen. Periodenweise wurde der N-Gehalt des Wassers, in welchem die Fische waren, untersucht und der N-Gehalt des Leitungswassers in Abzug gebracht. Dabei erhält man wahrscheinlich durch Salpeterbildung etwas zu wenig Stickstoff. Ich habe daher im folgenden nur die Analysen der Normaltiere und der Verhungerten verglichen.

	Lebendgewicht	Trocken- substanz	N-Gehalt	Cal
Dauer des Versuchs 122 Tage bei 15° Temperatur				
Tier IV vorher . . .	310,0	66,4	7,98	319
nachher . . .	184,1	36,3	3,92	140
	Verlust	30,1	4,06	179
Dauer des Versuchs 164 Tage bei 17° Temperatur				
Tier VII vorher . . .	260	55,7	6,93	267,0
nachher . . .	126	20,3	2,19	72,1
	Verlust	35,4	4,74	195,9

Die Angaben beziehen sich auf die direkte Verbrennungswärme, diese stimmt beim Eiweiß nicht mit der wirklichen, d. h. der physio-

logischen überein, da ja Harn- und Kotbestandteile gebildet werden. Die Fische haben in der Mehrzahl Harnblasen und sondern also einen flüssigen Harn ab, näheres scheint nicht bekannt. Immerhin darf man annehmen, daß die Harnbestandteile prinzipiell nicht wesentlich von den Warmblütern abweichen. Zu Anfang der Hungerreihe wird alsbald die Bildung der typischen Abfallprodukte eintreten. Nach meinen Untersuchungen kommen bei Hunger auf 1 g N-Ausscheidung 9,60 kg/Cal. als Abfallprodukt.

Daraus folgt nachstehende endgültige Bilanz:

	Tier IV		Tier VII
	179,0		195,9
4,06 . 9,6 =	39,0	4,78 . 9,6 =	45,9
Reinkalorien	140,0	kg/Cal	150,0

Auf einen Tag der Hungerreihe trifft: bei Tier IV 1,147 kg/cal. bei Tier VII 0,914 kg/cal.

Das mittlere Gewicht der Tiere war:

Tier IV nahm ab von 310 g auf 180, also Mittel = 245 g; Tier VII nahm ab von 260 g auf 126, also Mittel = 193 g. Für 1 kg war sonach die Wärmebildung bei Tier IV 4,68 kg/cal pro Tag, bei Tier VII 4,74 kg/cal pro Tag.

Ob diese Wärmebildung groß oder klein ist, läßt sich ohne weiteres nicht sagen. Da die Tiere aber unter natürlichen Umständen im Wasser leben, das in den Sommermonaten viel wärmer ist als die Versuchstemperatur von 16° und demgemäß die Oxydation gesteigert wird, so gelangt man dabei zu Größen der Verbrennung, welche merkwürdigerweise nicht viel von den Werten der Energiebildung pro Kilogramm bei unseren größten Haustieren abweichen, nur daß diese eben eine Leibestemperatur von 39° besitzen. Das scheint zunächst überraschend, aber man braucht nur einmal den Stoffverbrauch eines Pferdes pro Kilogramm und Tag zu berechnen, um zu sehen, daß tatsächlich solche Ungereimtheiten in der Natur vorkommen.

In nachfolgendem werden wir noch einige solcher Beispiele finden. Vorläufig empfiehlt es sich, bei Vergleichen bei der Kilogrammeinheit zu bleiben, da die Analysen der Tiere bekannt sind, steht es frei, später wenn nötig, auch eine andere Form der Vergleiche zu wählen.

Es ist vielen Beobachtern schon aufgefallen, daß bei Fischen und anderen Poikilothermen die kleinen Tiere einer Spezies häufig etwas höhere Respirationswerte geben als die größeren Tiere.

Daher werden wir auch selbstverständlich zu der Frage geführt, ob das die Regel oder sogar eine Gesetzmäßigkeit ist, und wenn sich das herausstellt, so erinnern solche Verhältnisse an die bekannten Beziehungen beim Warmblüter, wo sich allmählich der von mir zuerst nachgewiesene Zusammenhang der Oxydation mit der Oberfläche der Tiere trotz manchen Widerspruchs als richtig herausgestellt hat.

Dies mag als Begründung erscheinen, wenn ich die Ergebnisse des Energiwechsels gleich auf die Oberflächeneinheiten im voraus berechne.

Dem Gewicht von 245 g entspricht eine Oberfläche¹⁾ von
353 qcm pro 1 kg = 1441 qcm.

Dem Gewicht von 193 g entspricht eine Oberfläche von
301 qcm pro 1 kg = 1559 qcm,

also war die Wärmeproduktion

bei 15° bei Tier IV pro qm	32,47 kg/cal
„ 17° „ „ VII „ „	30,40 „
Mittel 16°	31,43 kg/cal

Für die Verteilung zwischen Fett und Eiweiß bei der Verbrennung ergibt sich folgendes:

Tier IV	1,147 kg/Cal.
N-Ausscheidung 33,3 mg pro Tag =	0,832 kg/cal aus Eiweiß.
Tier VII	0,914 kg/Cal.
N-Ausscheidung 29,0 mg pro Tag =	0,725 kg/cal aus Eiweiß.

Von den Kalorien stammen aus Eiweiß 72,53 bzw. 79,32 Proz., im Mittel 75,92 Proz.

Der Energieverbrauch pro Quadratmeter ist im Vergleich zu Warmblütern außerordentlich klein, da bei ihnen bei mittlerer Temperatur in runder Summe etwas über 1000 kg/cal pro Tag und Quadratmeter erzeugt werden, ja selbst nach Ausschaltung jeder Wärmeregulation immer noch etwa 700 bis 800 kg/cal, hier aber nur 31,42 kg/cal. Die Entscheidung darüber, ob bei den Schleien ein ausnahmsweise kleiner Energieverbrauch sich findet, wird durch die nachfolgenden Versuche an anderen Spezies weiter zu prüfen sein.

Über die Beteiligung des Eiweißes am Stoffwechsel wird von den Forschern behauptet, daß die Fische einen ungemein hohen Verbrauch hätten. Die Beweise hierfür sind allerdings bisher nicht erbracht. Meine Versuche zeigen, wenn sie kritisch ernährungsphysiologisch betrachtet werden, keine spezifische Sonderheit.

Im Mittel der ganzen Versuchsreihe wurden 75,9 Proz. der Energie aus Eiweiß bezogen. Anfangs wird das nicht der Fall gewesen sein, die Schleien gehören zu den Fischen, die zwar kaum 1,5 Proz. des wasserhaltigen Körpers an Fett enthalten, aber immerhin werden am Schluß der Reihe erst die höchsten Grade der Eiweißverbrennung vorhanden gewesen sein. Das Körperfett wurde durch den Hunger-

¹⁾ Die Oberflächen sind berechnet nach der Formel:

$$O = k \cdot \sqrt[3]{g\text{-Gewicht der Tiere}}$$

k ist für die Fische zu 9,0 direkt bestimmt worden.

zustand sozusagen quantitativ beseitigt. In diesen Verhältnissen liegt nichts vor, was wir nicht auch in ähnlicher Weise bei einem Warmblüter hätten beobachten können, jedenfalls kein Beweis einer spezifischen Erhöhung der Eiweißzersetzung, von der so häufig gesprochen wird.

Es ist ein Mangel, daß wir über die fast fettfreien Fische keine experimentellen Messungen ihres Eiweißstoffwechsels bisher besitzen. Im Grunde genommen, bedeutet natürlich der Fettmangel eine große Gefahr für das Leben der Tiere. Doch läßt sich nach dem bisher Gesagten ja eine Erklärung darin finden, daß der Energieverbrauch, wie wir es an der Schleie sehen, ungemein klein ist und durch das Aufsuchen kühler Standorte noch auf ein Minimum verringert werden kann. Bei den Schleien, die bei 0,1 bis 0,2° und selbst bei 8° geblieben waren, läßt sich nach Wochen keine Veränderung des Gewichtes nachweisen. Sie besitzen also zwar nur spärliche Fettvorräte, aber dafür anderweitig die Möglichkeit des Lebensschutzes durch niedrige Temperatur.

Ich habe die folgenden zu berichtenden Versuche methodisch anders angelegt und bei zwei anderen Spezies die von den Fischen direkt erzeugte Wärme in meinem Mikrokalorimeter gemessen, und zwar unter Umständen, daß von einer Nahrungsentziehung nicht die Rede sein konnte. Verwendet wurden Goldfische und Stichlinge, und zwar nur kleinere und ganz junge Tiere. Während die Schleien sehr träge waren und auch die Goldfische ziemlich unbewegt im Wasser standen, machten die Stichlinge lebhaft, oft blitzschnelle Bewegungen.

Versuche an Goldfischen.

An Goldfischen sind schon mehrfach von anderen Autoren Messungen des Sauerstoffkonsums gemacht worden nach verschiedenen Methoden. Man hat diese da und dort zerstreut publizierten Versuche wenig beachtet und ebensowenig kritisch untereinander verglichen. *Meine* Resultate ergeben die gesamte Wärmebildung inklusive der Wärme der Arbeitsleistung, da ja Energie nach außen nicht übertragen worden ist. Ich setze das Mikrokalorimeter, wie ich es auch zum Studium der Hefen, Bakterien usw. ausgedehnt in Anwendung gezogen habe, als bekannt voraus. Es genügen einfache Glaskalorimeter, wie ich sie zumeist auch für Hefen verwendet habe, doch ist der Temperaturzuwachs bei den Fischen viel kleiner, als wenn man etwa das gleiche Gewicht Hefezellen der Gärung in Zucker überläßt. *Meine Fische* wurden stets nur im Leitungswasser beobachtet und blieben meist nicht länger als drei Tage im Versuche. Als Versuchsergebnis *nahm* ich stets die Wärmebildung eines vollen Tages. Zwei Reihen wurden durchgeführt, eine bei 16,6°, die andere bei 21,8° unter Verwendung von je vier Fischen etwa gleicher Größe.

Gewicht der Fische g	Gewicht eines Fisches g	Cal pro kg und Tag	Oberfläche pro kg	kg/cal pro Tag und qm
Bei 16,6°.				
12,3	4,1	12,48	5622	22,2
13,7	4,5	14,88	5451	27,3
9,1	3,0	12,64	6240	20,2
12,4	4,1	11,06	5622	19,7
Mittel				22,36
Bei 21,8°.				
12,3	4,1	18,07	5622	32,1
13,7	4,5	17,66	5451	32,4
9,1	3,0	21,65	6280	34,7
12,4	4,1	25,15	5622	44,7
Mittel				33,5

Am Ende der Versuche waren die Tiere frisch und gesund. Die Wärmebildung stieg für 5,2° Unterschied von 22,36 auf 33,5 = 100 : 150, also für 5,2° um 50 Proz. = 9,6 Proz. für 1°. In beiden Reihen kommen Ungleichheiten der Wärmebildung vor. Im Versuche mit 16,6° ist der zweite Wert höher als das Mittel, im Versuche bei 21,8 der letzte Wert besonders hoch. Ob dabei eine ungleiche Bewegung der Tiere einen Einfluß ausgeübt hat, kann ich nicht bestimmt angeben, doch ist es wahrscheinlich. Von den älteren Versuchen, die nur das Ziel hatten, die *Respirationsgröße* festzustellen, habe ich vor allem jene von *Jolyet* und *Regnard* zu erwähnen, welche in allen möglichen Hand- und Lehrbüchern gewissermaßen als Grundlage unseres Wissens über die Atemgröße der Fische wieder reproduziert werden. Unter diesen Versuchen sind drei Beobachtungen, die einigermaßen mit den Versuchsbedingungen meiner Experimente übereinstimmen¹⁾. Sie bringen uns die Angaben über Größe der Tiere und deren Sauerstoffverbrauch. Aus diesen Grundzahlen habe ich das Weitere, was heute für die Beurteilung der Ernährung notwendig erscheint, berechnet.

Gewicht des Tieres g	Temperatur des Wassers	Pro kg und Stunde ccm Sauerstoff	Cal pro kg und Stunde	Cal pro kg und Tag	Oberfläche pro kg Tier	Pro qm Oberfläche Cal im Tage
13	12°	41,3	0,198	4,75	3823	12,48
33	12	45,8	0,220	5,28	2803	18,89
106	12	35,0	0,168	4,03	1896	21,25

Die Ergebnisse würden lauten, daß die Größe der Wärmebildung der Maße proportional ist, was sich, wie wir sehen werden, als unrichtig herausstellt. Nach meiner Anschauung ist der Wert für das kleine Tier von 13 g zweifellos auf einen Versuchsfehler irgendwelcher Art zurückzuführen.

¹⁾ *Zuntz*, Handb. d. Physiol. von Hermann 4, 149.

Die Versuche von *Jolyet* und *Regnard* enthalten auch eine Versuchsreihe über den Einfluß der Temperatur auf den O-Verbrauch. An einem und demselben Tiere wurden pro Stunde und Kilogramm als O-Verbrauch gemessen:

bei 2°	14,8 ccm
„ 10°	37,8 „
„ 30°	147,8 „

Hieraus läßt sich eine Korrektionszahl gewinnen, um die bei 12° beobachteten obenstehenden Werte auf 16°, d. h. meine Versuchstemperatur zu übertragen.

Die Kurve zeigt nur eine schwache Krümmung und müßte, um genau zu sein, durch mehr Beobachtungen gestützt sein, sie ergibt für den vorliegenden Fall, daß der Wert von 12° mit 1,42 multipliziert werden muß, um für 16° gültig zu sein, geht also in dieser Hinsicht mit meinen eigenen Beobachtungen genügend überein.

Die Ausrechnung ergibt für 1 qm Oberfläche bei 16° 17,72, 26,82 und 30,17 kg/cal.

Unter den obwaltenden Verhältnissen kann man weder sagen, daß 17,7 zu klein und 30,17 zu groß sei, so bleibt also nur übrig, alle drei Werte im Mittel zu betrachten, was 24,9 kg/cal pro 1 qm ergäbe und mit der auf anderem Wege von mir gefundenen Zahl 22,4 zufällig gut übereinstimmen würde. Jedenfalls gehen die Versuche von *Jolyet* und *Regnard*, das darf man sagen, in der Größenordnung mit meinen Messungen gut überein.

Noch brauchbares Material finde ich bei *Pütter*. Zwar sind die rechnerisch verwertbaren Unterlagen nicht ganz leicht aus den Zahlenzusammenstellungen herauszufinden. Er hat auch Experimente über die O-Zehrung bei Goldfischen angestellt. Die Gewichte der Tiere werden mehr nebenher für die einen in frischer Substanz, für die anderen Fälle in Trockensubstanz angegeben. Ich glaube aber mich zurechtgefunden zu haben und rechne das Grundmaterial, das anderen Zwecken dient, für die vorliegende Frage der absoluten Größe der Wärmeproduktion um. Als Mittel ist anzunehmen 1,02 g Trockensubstanz pro Fisch und bei 21 Proz. Trockensubstanz, wie *Pütter* an einer Stelle angibt, wäre das Gewicht eines seiner Fische im Durchschnitt 4,85 g gewesen.

Nach *Pütter* verbraucht 1 kg Goldfisch in einer Stunde:

$$\left. \begin{array}{l} 362 \\ 466 \\ 485 \end{array} \right\} = 438 \text{ mg Sauerstoff} = 306 \text{ ccm O.}$$

306 ccm O geben $\times 4,64 \text{ g/cal} = 1420 = 1,420 \text{ kg/cal} \times 24 \text{ pro Tag} = 34,08 \text{ kg/cal pro Tag bei } 16^\circ$.

4,85 g Fisch entsprechen an Oberfläche 25,8 qcm, 1 kg = 5,319 qm, pro 1 qm beträgt die Wärmeproduktion 64,09 kg/cal pro Tag bei 16°.

Sonach hätten wir nach meinen Versuchen als Wärmebildung des Goldfisches bei 16° pro 1 qm Oberfläche 22,4 kg/cal pro Tag, nach meinen Berechnungen der Versuche von *Jolyet* und *Regnard* 24,9, von *Pütter* 64,09.

Die Fehler einer einzelnen Beobachtung mögen schon wegen individueller Schwankungen und Differenzen in der Bewegung nicht unerheblich sein. Die Werte *Pütters* sind um ein Mehrfaches größer als meine Zahlen und die von *Jolyet* und *Regnard*. Natürlich lasse ich offen, ob der kalorische Wert des Sauerstoffs überall der gleiche bei *Jolyet-Regnard* und bei *Pütter* gewesen ist. Diese Unsicherheiten kommen gegenüber anderen Fehlern aber kaum in Betracht.

Versuche an Stichlingen.

Um noch weiteres Material und eine größere Spannung zwischen den Größenunterschieden zu erhalten, verwandte ich schließlich noch Stichlinge, die freilich in ihrer Kleinheit für die gestellten Aufgaben paßten, andererseits durch ihre Unruhe und Lebhaftigkeit, die anscheinend bei ihrer Gefräßigkeit durch den Aufenthalt im Brunnenwasser, das keine Nährwerte bietet, gesteigert wird, einen unwillkommenen Faktor in das Experiment einführten. Zu mehreren in das Kalorimeter gebracht, liefern sie genügend Wärme, um eine genaue kalorimetrische Untersuchung zu erlauben.

Es wurden von einer Brut von Fischen je 11 g und je 7 g zu kalorimetrischen Versuchen benutzt. Das Mittelgewicht eines Fisches war im ersten Falle 2,75 g, im letzteren Falle 1,75. Die Resultate waren folgende:

Gewicht der Fische g	Gewicht eines Fisches g	Cal pro kg und Tag	Oberfläche pro kg und qcm	kg/cal pro Tag und qm
Bei 18° Wassertemperatur.				
11	2,75	30,96	6479	47,7
7	1,75	39,12	7462	52,4
			Mittel	50,05
Bei 23,5° Wassertemperatur.				
11	2,75	41,23	6479	63,8
7	1,75	58,42	7462	78,0
			Mittel	70,9

In dem Versuche mit 11 g Fischen war ein Tier nach dem Versuche offenbar krank, denn es schwamm nicht mehr normal, war träge und legte sich mehrfach auf die Seite. Nach dem ersten Versuche mit diesen Tieren war etwas Pathologisches nicht aufgefallen. Die Wärmebildung war bei Erhöhung der Wassertemperatur um 5,5° um 43,9 Proz. gestiegen, also pro 1° rund um 8 Proz. Da aber der eine Wert bei 23,5 zu niedrig sein dürfte, so könnte man die Zahlen der kleinen Tiere für richtiger halten. Diese geben das Verhältnis $+ 52,4 : 78,0 = 100 : 148,8$. Demnach für 5,5° eine Differenz von 48,8 Proz. = pro 1° Temperaturzuwachs eine Mehrung der Wärmebildung um 8,87 Proz.

Da man annehmen könnte, das sich trübende Wasser der Kalorimeter werde auch durch Bakterientätigkeit erwärmt, wurde die Beob-

achtung nach Herausnahme der Fische fortgesetzt. Es zeigte sich keine meßbare Wärmebildung. Zur Kontrolle wurde dann noch ein Tröpfchen Sublimat zugegeben, ohne jede *nachfolgende* Änderung der Temperatur¹⁾.

Reduziert man die Ergebnisse mit Stichlingen von 18 auf 16°, so treffen auf 1 qm pro Tag rund 42,35 kg/cal. Dieser Wert ist höher als der an Schleien und Goldfischen gefundene Mittelwert von 26,7 kg/cal. Ich trage Bedenken, das als einen Ausdruck einer Speziesverschiedenheit anzusehen, glaube vielmehr, daß es sich dabei um eine Mehrbildung von Wärme durch die lebhaften Bewegungen der Tiere handelt. Es war mir aber doch von Wichtigkeit, noch eine weitere Bestätigung dieses eigentümlichen Verhaltens der Stichlinge zu suchen.

Unter den Versuchen von *Pütter*, durch die er nachweisen will, daß das Wasser zur Ernährung taugliche Nährstoffe enthält, finden sich auch Angaben über den Sauerstoffverbrauch beim Stichling. Die für mich wichtige Frage des Gewichtes der verwandten Tiere ist allerdings nicht ausreichend berücksichtigt. Ich verwende die Zahlen einer 38tägigen Hungerreihe, an deren Ende bereits einige Tiere starben. Zur Sauerstoffbestimmung wurden je drei Tiere benutzt, letztere waren sehr klein, etwa 0,5 bis 0,7 oder 0,8 g entsprechend. Nach meiner Durchrechnung wurden bei 16° von „einem Tiere“ 0,221 mg O verbraucht pro Stunde = 5,304 mg O pro Tag, diese sind = 3,71 ccm O, sie geben $\times 4,64 = 17,2$ g/cal Wärme. Nimmt man Anfangsgewicht und Endgewicht der Hungerreihe, so findet man 0,537 g als Mittelgewicht, pro Kilogramm Tier pro Tag also 32,0 kg/cal. Ein Tierchen von 0,539 g hat eine Oberfläche von 5,97 qcm, 1 kg = 11080 qcm pro 1 qm und Tag bei 16° 28,9 kg/cal.

Eine andere Art der Berechnung ist folgende. *Pütter* gibt die Zusammensetzung eines Tieres vor dem „Hungerversuch“ und nach demselben. Vorher wogen Tier und Trockensubstanz 170 mg, nach dem Hungerversuch 73 mg. *Pütter* gibt auch den N-Gehalt der Trockensubstanz in Prozenten zu 5,6 bzw. 5,88 Proz. an. Diese Werte sind falsch. Daß die Trockensubstanz irgend eines Tieres nur 5 bis 6 Proz. N enthielt, kommt nicht vor. Sicher auch nicht bei Fischen, für die mir zahlreiche eigene Analysen zu Gebote stehen. Aus eigenen Untersuchungen will ich kurzweg die Verbrennungswärme normaler Fische (Schleie) und verhungelter in die obigen Werte einsetzen (normal 1 g trocken = 4,798, verhungert 3,710 kg/cal).

¹⁾ Als Beispiel der Berechnung mag angeführt sein: Wärmeanstieg des Kalorimeters 0,233°, 1° = 0,061 kg/cal pro 1 Stunde = 0,014 21 kg/cal. Verwendet: 4 Fische = 11 g Fische; 1 g 0,001 29 kg/cal, 1 kg = 1,29. Ein Fisch wog 2,75 g, seine Oberfläche war pro Kilogramm Tier = 6479 qcm. Wärme pro Stunde pro 1 kg 1,29.24 = 30,96 kg/cal pro Tag.

Dann hat man

am Anfang der Versuche	0,816 kg/cal
am Ende der Versuche	0,271 „
verloren	0,645 kg/cal

in 38 Tagen, d. h. im Tage 17,1 g/cal pro Tier von rund 0,5 g, also pro 1 g 34,2, aufgewertet auf $16^0 = 38,8$, also pro Kilogramm 38,8 kg/cal (oder 32,0 kg/cal).

Es wäre von erheblichem Interesse, wenn man die Möglichkeit hätte, auch an sehr großen Fischen die Ernährungsverhältnisse näher zahlenmäßig zu erforschen, haben wir doch in dem Hausen z. B. einen Fisch, der bis zu 8 m Länge erreicht, bei einem Gewicht von 1000 bis 1500 kg pro Tier. Ein interessantes Objekt für eine Schätzung des Stoff- und Energieverbrauchs bieten die Angaben von *Miescher* über die Gewichtsänderungen des Lachses während eines Aufenthaltes in den Gewässern von Basel, beurteilt nach den Verhältnissen der dort monatlich gefangenen Fische. Es handelt sich im allgemeinen um Tiere mäßiger Größe. Der Lachs mästet sich im Meere durch Fischfang. Im Frühjahr erscheinen die geeigneten Tiere an den Flußmündungen und steigen scharenweise den Fluß hinauf. Es ist bekannt, daß sie gewaltige Muskelleistungen machen können, indem sie sich bis 6 m weit und 2 m hoch fortschnellen, wo ein Hindernis sich findet. Man nimmt an, daß der laichende Lachs im Flusse keine Nahrung aufnimmt. Die jungen Lachse aber bleiben etwa 16 Monate im Brutgebiet, wachsen aber nur langsam bis auf 40 cm Länge. Sie finden also geeignete Nahrung, erst nach Rückkehr in die See geht das Wachstum dann rapid vor sich, in acht Wochen sollen sie 7 kg schwer werden, im zweiten bis dritten Jahre ihres Lebens beginnen sie, flußaufwärts zum Laichgeschäft zu wandern.

Was an Stoffverlust bei der Wanderung bis Basel geschieht, weiß man nicht, die Reise ist lang. Das zu überwindende Gefälle des Stromes spielt aber erst im oberen Teile des Mittellaufs eine Rolle. Von Laufenberg bis Basel beträgt die Höhendifferenz etwa 310 bis 252 m = 58 m. Kehl liegt 150, Mannheim 84, Köln 36 m über der Nordsee. Der Mittellauf, der bei Bonn zu 454 km angegeben wurde, hat ein Gefälle von 0,47 Proz., das natürlich bei Hoch- und Niedrigwasser eine sehr ungleiche Geschwindigkeit bedingt. Bei mäßigen Wassermengen kommt man bei 0,75 Proz. Gefälle in kanalisierten Strecken auf 0,8 m/sec Geschwindigkeit. Für Laufenberg bis Basel mag annähernd das Gefälle 1,5 Proz. betragen. Weiter ist zu betrachten, daß der Randstrom und Bodenstrom in einem Flusse wesentliche Unterschiede vom Mittelstrom zeigen.

Die Temperaturen des Wassers kann man einigermaßen schätzen nach dem Monatsmittel. Für Basel für den Januar 0,5, für April + 9,5,

Juli 19,1 und Oktober 9,0⁰. Jahresmittel = 9,3⁰. Köln hat 10,1⁰ Jahresmittel.

Daraus ergibt sich ungefähr ein Bild der äußeren Verhältnisse, unter denen *Mieschers* Beobachtungen sich abgespielt haben.

Daraus folgt, daß sich die Lachse in einem rasch sich bewegenden Wasser aufgehalten haben, daß sie aber Tag und Nacht im Hauptstrome eines Flusses stehen, wird man, wie das *Pütter* für seine Berechnungen, die hier nicht interessieren, zugrunde legt¹⁾, nicht wohl annehmen. Weiter ist klar, daß in den Monaten Januar, Februar, November, Dezember durch die niedrige Temperatur des Rheinwassers alle Stoffwechselvorgänge, die mit der Leibtemperatur zusammenhängen, sehr abgesunken sein werden.

Nunmehr will ich versuchen, die Angaben *Mieschers* zur Feststellung des Nahrungsverbrauchs zu verwenden, ohne daß ich freilich für die Grundlagen, wie sie *Miescher* gibt, eintreten kann. Ich mache auch keine Korrekturen für die Beobachtungszeit von einem Jahre. Nach *Mieschers* zahlreichen Bestimmungen ist das Anfangsgewicht der Lachse 9,5 kg, das Endgewicht 7,2 kg, und der Zeitraum für diese Änderung sind 365 Tage. Während dieser Zeit nehmen sie, wie man angibt, keine Nahrung auf. Ich muß das als gegeben hinnehmen. *Miescher* macht über die Muskulatur der Lachse die Angabe, daß der Trockengehalt zu Anfang 34,6 Proz., zu Ende 21,8 Proz. gewesen sei.

Der wunde Punkt für alle weitere Berechnung liegt darin, daß keine Gesamtanalyse der Tiere zu Ende der Reihe vorliegt, sondern nur Angaben über den Muskel. Im allgemeinen wird aber anzunehmen sein, daß der Schwund der Muskeln viel weiter fortgeschritten ist als der der übrigen Körpermasse. Ein Umstand weiter, der allerdings nur den N-Stoffwechsel trifft, liegt darin, daß nicht eine glatte Umschmelzung des Muskels zu Ovarialorganen oder Hoden anzunehmen ist, sondern, daß abgesehen von den Geschlechtsprodukten, auch stickstoffhaltige Umsetzungsprodukte, die nicht für die Geschlechtsprodukte verwendbar sind, abgestoßen werden. Nach Versuchen in meinem Laboratorium kann man zwar bei normalen Tieren annehmen, daß die Analysen des Muskels, abgesehen von dem Aschegehalt, als Zusammensetzung aller Organe als Grundlage dienen kann.

Dies gilt aber nicht für verhungerte Tiere, der Muskel steht an Wassergehalt dem Leibesdurchschnitt voran; um diesen Durchschnitt zu erhalten, müßte man die organische Substanz der Muskulatur auf das 1,22fache erhöhen²⁾. Die Muskelzusammensetzung ist nicht die Körperzusammensetzung, denn wie aus den von mir angegebenen

¹⁾ Zeitschr. f. allgem. Physiol. 9, 147ff., 1909.

²⁾ Nothwang, Arch. f. Hyg. 14, 272.

Analysen hervorgeht, ist der Gesamtkörper viel aschereicher als der Muskel. Rechnet man die *Miescherschen* Zahlen für Muskeln auf den höheren Aschegehalt des Gesamtkörpers um (s. *Inaba*, l. c., s. oben) und benutzt die gegebenen Analysen, so stimmen *Mieschers* Angaben über den Muskel zu folgender Zusammensetzung des Gesamtkörpers = 100 Teile frisch = 42,1 trocken = 18,5 Proz. N-Substanz, 9,7 Proz. Fett, 13,9 Proz. Asche. Aus der Masse der organischen fettfreien und aschefreien Masse ergibt sich durch Multiplikation mit 5,309 die Kalorienmenge des Eiweißes, wozu dann noch das Fett hinzuzurechnen ist, im ganzen 1884 kg/cal pro 1 kg. Für die Zusammensetzung der durch Hunger sehr erschöpften Tiere nehme ich an pro 100 Teile frisch 21,3 N-Substanz¹⁾, 0,73 Fett pro Kilogramm = 1196 kg/cal.

Daraus folgt:

Für den Anfangsbestand			
	9,7 kg 17898 kg/cal ²⁾ ,	921,5 Fett,	1758 N-Substanz
Für den Schlußbestand			
	7,2 kg 8611 kg/cal,	52,6 Fett,	1534 N-Substanz
Differenz	9287 kg/cal,	868,8 Fett,	224 N-Substanz

Berechnet man die N-Substanz u. -Fett nach den Standardwerten, so hat man

Kalorien aus Eiweiß	918,4 kg/cal
„ „ Fett	8088,8 „
Summe . .	9007,2 kg/cal

9287 kg/cal oben sind Rohkalorien, von denen noch die verbrennlichen Teile, die im Harn und Kot als Stoffwechselprodukte des Eiweißes auftreten, abgezogen werden müssen, nach meinen Untersuchungen auf 1 g 8 kg/cal. Ausgeschieden wurden $\left(\frac{224}{6 \cdot 25}\right) = 35,8$ g N, also

	9287
– 35,8 × 8.	286,4
Reinkalorien	9000,6

¹⁾ Für den Endbestand gehe ich von der Zusammensetzung des Muskels aus, den *Miescher* zu 21,8 Proz. angibt, weiter ist nichts angeführt. Ich lege für diesen Muskel zugrunde die Verteilung von N-Substanz und Fettgehalt der verhungerten Schleien. Unter Berücksichtigung des hohen Aschegehaltes verhungelter Tiere, muß der Muskel auf Organmasse umgerechnet werden, und schließlich, weil der Muskel bei Hungertieren zu wenig organische Stoffe angibt, um das „ganze Tier“ zu berechnen, entsprechend aufgehört werden. Für das verhungerte Tier würde ich rechnen, für 100 frisch 26,0 Trockensubstanz 2,8 Proz. N, 17,2 N-Substanz, 0,6 Fett und 7,43 Asche. Wertet man die organischen Substanzen auf, so wird 100 frische Substanzen 3,42 N = 21,3 N-Substanz 0,73 g Fett = 119,6 Cal.

²⁾ Aus der direkten Bestimmung der Verbrennungswärme ganzer Fische berechnet.

was mit der Überschlagsrechnung gut übereinstimmt. Rechnet man 365 Tage, so treffen auf den Tag etwa 24,7 kg/cal und 0,098 g N bei einem Mittelgewicht der Tiere von 8,35 kg, pro 1 kg und Tag 2,95 kg/cal, 0,012 g N. Von den Gesamtkalorien treffen 10,2 Proz. auf Eiweiß, 89,8 Proz. auf Fett, was auch sonst bei Warmblütern vorkommt, wahrscheinlich wird anfänglich weniger und später bei Fettschwund mehr als der Durchschnitt an Eiweiß verbraucht.

Die durchschnittliche Temperatur des Wassers dürfte etwa 9 bis 10° betragen haben.

Die Oberfläche der Tiere wird gewesen sein bei 9,5 kg 4133 qcm, so daß auf 1 qm und pro Kilogramm Körpergewicht 435 qcm, bei 7,2 kg 3556 qcm, also auf 1 qm und pro Kilogramm Körpergewicht 493 qcm treffen. Auf 464 qcm treffen 2,95 kg/cal = pro 1 qm bei 10° 63,6 kg/cal.

Besprechung der Ergebnisse.

Die vorliegenden Untersuchungen ergeben nach den wichtigsten Richtungen hin bestimmte Aufschlüsse über die Lebensvorgänge bei den Fischen und gestatten, manche älteren Angaben nachzuprüfen. Im allgemeinen erweist sich der Fisch, wie schon erwähnt wurde, als ein sehr unbequemes Versuchstier, da die Intensität seines Stoffwechsels nur eine geringe ist.

Der Stoffwechsel schwankt mit der Temperatur des Mediums, der Fisch hat ja keine Möglichkeit, sich auf die Dauer von dieser umgebenden Temperatur unabhängig zu machen, wenigstens gilt dies von den kleineren Fischen, wie sie für die üblichen physiologischen Einrichtungen Verwendung finden können. Die Wirkung der Änderung der Wärme stimmt bei mir mit jenen Angaben überein, die pro 1° Temperaturzuwachs etwa 9 bis 10 Proz. Steigerung des Umsatzes gefunden haben.

Dieser Temperaturwert kann als hoch bezeichnet werden, da z. B. bei Hefe die Zunahme des Energiewechsels pro 1° nur 6,1 Proz. ausmacht und bei Warmblütern der Wechsel der Wärme der *Umgebung* meist nur 2 bis 3 Proz. Änderung des Stoffverbrauchs bedingt. Was die Größe des Kalorienverbrauchs betrifft, so ergibt sich folgendes:

Die Werte pro 1 kg zeigen, wenn man alle Versuche mit fallendem Gewicht ordnet, ein Ansteigen der Wärmebildung:

	kg/cal pro Tag bei etwa 16°
Lachs	2,95
Schleien	4,68
	4,74
	12,48
Goldfische	14,88
	12,64
	11,06
Stichling	30,96
	39,12

Die Intensitätsunterschiede des Stoffwechsels pro Kilogramm Tier sind sehr erheblich und würden noch größer sich gestalten, wenn wir den Stoffwechsel der großen Haie oder der Hausen mit Gewichten von mehreren tausend Kilogrammen genauer feststellen könnten. Das ist alles sehr bemerkenswert, denn schließlich sind die ausgewachsenen Tiere anatomisch und prozentig gleich aufgebaut, und auch in ihren Lebensäußerungen haben wir keine auffälligen Unterschiede. Eins wie das andere nährt sich, pflanzt sich fort, wächst in der Jugend usf. Was aber in 1 kg Substanz abläuft, ist in energetischem Maße höchst ungleich.

Dieselben Organe in kleineren Tieren bedürfen zu ihrer Erhaltung des Lebens ganz verschiedene Mengen von Energie, von Blutzufuhr, von Sauerstoff, von Eiweiß. Liefert die Nahrung nicht entsprechendes, so erfolgt der *Hungerzustand*, die *Einschmelzung* von Organen und Fett und dann der Tod; noch lange, ehe der größere Teil der Gewebe aufgezehrt ist. All das ist um so merkwürdiger, als diese Änderung des lebensnotwendigen Bedarfs sich in der Entwicklung desselben Tieres vollziehen kann. Morphologisch den Erwachsenen gleichgebaute Zellen der jungen Tiere ändern ihren Bedarf mit dem Wachstum; sie können nach Ablauf des Wachstums, wofür wir Beispiele haben, mit einem *Bruchteil* von dem auskommen, was sie in der Jugend im Betriebsstoffwechsel als lebensnotwendigen Aufwand haben müssen. Es muß also die Möglichkeit gegeben sein, das Protoplasma der Zellen so umzustellen, daß der Aufwand eingeschränkt wird. Dagegen verfügt die junge Zelle oder die Zelle eines kleinen Tieres über kein Mittel, um plötzlich im *Notfalle* die Einschränkung des „Bedarfs“ herbeizuführen, obschon das doch sehr zweckmäßig wäre.

Die Versorgung des höheren oder geringeren Nahrungsbedarfs geschieht bei erwachsenen Tieren nicht durch eine prozentige Vermehrung des Blutes (im Ausgewachsenen), sondern, bei etwa gleichen Blutmengen, durch eine Veränderung der Pulszahl, also Beschleunigung des Kreislaufs, dem sich die Atmung anpassen muß. Analoges wird wohl auch bei Fischen sich finden. Die Verdauung steigt oder fällt mit der Änderung der Drüsentätigkeit, deren Leistung bereits im Ruhestoffwechsel vorbestimmt erscheint.

Zum Zwecke des Vergleichs des Energieverbrauchs der Fische und jenes des Säugers will ich noch ein paar Zusammenstellungen machen.

Ein kleiner Stichling von 1,75 g Gewicht erzeugt pro Kilogramm bei 16° 39,12 kg/cal pro Tag, nehmen wir aber Hefezellen, so liefert 1 kg bei 16° 72,90 kg/cal pro Tag¹⁾, ein kleiner Säuger (Maus von 1,75 g

¹⁾ Die Berechnung ist folgende (siehe mein Buch: Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle, S. 78): 1 g Hefe liefert bei voller Tätigkeit, aber unter Abrechnung der Zuckerzerlegung durch vorgebildetes Ferment 900 g/cal; auf 16° gerechnet 729 g/cal.

Gewicht) bei 16° Lufttemperatur 977,0 kg/cal pro Tag bei 38 bis 39° Bluttemperatur.

Ein lockerer Zellhaufen ohne Organisation wie die Hefe liefert 18,7mal soviel Wärme als die Zellen im Leibesverband des Stichlings¹⁾; der Säuger kommt auf die Leistung der Hefe nur durch seine Erwärmung auf 38 bis 39°.

Man kann noch ein weiteres Paradoxon anfügen. Wir nehmen ungleich große Säuger und als untere Stufe ein kleines Meerschweinchen von 50 g Gewicht, so liefert dieses pro 1 kg 286 kg/cal am Tage, ein Pferd von 450 kg 15 kg/cal am Tage.

Mit der fortschreitenden Massenentwicklung der Säuger kommen wir schon beim *Pferde* zu einem so kleinen Energieverbrauch pro Kilogramm, wie ihn der *Goldfisch* zeigt. Man kann sich denken, daß die Kilogrammwerte eines Elefanten im Energieverbrauch hinter vielen Fischen zurückstehen müssen. Es gibt hier also überhaupt *keine scheidende Grenze zwischen Kalt- und Warmblütern*. Im Zellverband des großen Tieres mit kleinem Energieverbrauch kann eben sehr viel Energie gespart werden, weil ihr Verbrauch funktionell entbehrt werden kann, d. h. entbehrt werden kann für rein thermische Zwecke. Das tut den übrigen Leistungen der Zelle keinen Eintrag.

Es bewegen sich also bei den Kaltblütern die Zahlen für den Energieverbrauch mit der Massenzunahme der Tiere ins endlos Kleine, aber auch bei den Warmblütern ebenso; was uns dabei überrascht, ist nur der Umstand, daß sich Fälle finden, in denen sich nach der Menge der Energie, die pro 1 kg Lebendgewicht verbraucht wird, beurteilt, Kalt- und Warmblüter überhaupt nicht mehr unterscheiden, eine vom Standpunkte des Zellstoffwechsels äußerst wichtige Tatsache. Der Energieverbrauch des Protoplasmas hängt also ganz von den verschiedenartigsten Bedingungen ab, unter denen es sich befindet, und für die anscheinend selben Zwecke werden oft ungleiche Mengen von Energie aufgebraucht. Es muß aber bestimmte äußerste Grenzen für die Verringerung des Energieverbrauchs geben, unter welchen ein normales Funktionieren nicht möglich ist. Man kann also auch an eine Begrenzung der Größe der Tiere durch Minderung des Energieverbrauchs denken, denn Zellen mit geringem Energiewechsel sind einem fremden Angriff durch andere Zellen, etwa Parasiten, unterlegen.

¹ Energieverbrauch beim *Hausen* schätze ich pro Kilogramm auf 1 pro Tag bei 16°. Der *Hausen* kann 1400 kg Gewicht erreichen und zu den größten Fischen, die wir kennen. Bei einem Walfisch 00 kg mag die Wärmeproduktion im Tag pro Kilogramm sich wohl nicht höher als auf 1,7 kg/cal stellen, bei normaler Blut-

Die Tatsache, daß bei den Kaltblütern die kleineren Tiere häufig einen relativ größeren Nahrungsverbrauch zeigen, war schon bekannt, wenn sich auch in der Literatur einige gegenteilige Fälle finden.

Man muß nun versuchen, die ungleiche Größe in den Beobachtungen zu eliminieren. Das geschieht nach meinem Vorgange durch Berechnung des Energieverbrauchs auf der Oberfläche — wenigstens bei den Warmblütern. Ob aber derartiges auf die Kaltblüter angewandt werden kann, ist fraglich. Freilich glaubt man, das ohne weiteres tun zu dürfen, und ich werde auch die Berechnungen genauer durchführen, muß aber darauf hinweisen, daß auch, wenn es sich herausstellt, daß die gewonnenen Zahlenwerte pro 1 qm Oberfläche übereinstimmen, ich damit nicht behaupten will, die Oberfläche an sich stehe in kausalem Zusammenhang mit der Änderung des Energieverbrauchs.

Bei den Warmblütern führt die Erklärung der Oberflächenwirkung auf den Energiewechsel gedankenmäßig auf den Zusammenhang mit der Wärmebildung. Dieser Zusammenhang, das vergißt man nur immer, braucht trotzdem kein scharfer und zahlenmäßiger zu sein. Die Natur hätte die Mittel besessen, die Abkühlung bei Groß und Klein auch in anderer Weise zu ordnen. Tatsächlich besteht, wie das Experiment gezeigt hat, eine durchaus engste Verbindung zwischen relativer Oberfläche und relativer Höhe des Stoffwechsels.

Wenn nun manche Beobachter angefangen haben, das Oberflächen-gesetz auf Kaltblüter zu übertragen, so liegt dafür durchaus kein logischer Zwang vor, jedenfalls ist bislang das Untersuchungsmaterial nicht derart gewesen, um ein solches Vorgehen als berechtigt erscheinen zu lassen.

Die von mir festgestellten Werte lassen aber wirklich zum erstenmal eine so weitgehende Annäherung bei der Berechnung auf gleiche Oberflächen nachweisen, daß man sich zur Reduktion der Energiewerte bei ungleich großen Tieren dieser Berechnung bedienen darf. Ich habe für jede Versuchsreihe den bei ihr selbst experimentell festgestellten Faktor der Temperaturvariation benutzt und alle Werte nach der Größe der Tiere zu einem für 16° geltenden Mittel vereinigt¹⁾.

¹⁾ Die berechneten Grundzahlen und korrigierten Zahlen lauten pro 1 qm Oberfläche:

Gewicht	Gefunden	Korrigiert	Temperatur	Gewicht	Gefunden	Korrigiert	Temperatur
1,75	52,4	52,4	18,0	4,1	19,7	21,8	16,6
2,75	47,7	47,7	18,0	4,1	32,1	24,4	21,8
2,75	63,8	42,9	23,5	4,5	32,4	24,8	21,8
1,75	78,0	52,3	23,5	3,0	24,7	26,6	21,8
4,1	22,2	24,4	16,6	4,1	44,7	34,0	21,8
4,5	27,3	30,2	16,6	310,0	27,3	36,8	14,5
3,0	20,2	22,5	16,6	260,0	25,3	34,1	14,5

Ein Fisch wiegt g	kg/cal pro qm und Tag
(0,5)	(38,8)
1,75	42,3
2,75	42,3
3,0	24,5
4,1	26,1
4,5	27,5
193	30,4
245	32,5

33,08 als
Gesamtmittel
pro 16°

Das Ergebnis zeigt, daß die auf gleiche Temperatur und Oberfläche reduzierten Werte von Tieren *verschiedener* Spezies sehr nahe übereinstimmen. Die größten Unterschiede zeigt nur die kleine Brut (bei 1,75 und 2,75 g pro Fisch), welche allerdings auch von den übrigen sich durch die große Lebhaftigkeit unterschied.

Zu den größten Fischen gehören die Haie, die nach *Brehm* mehrere tausend Kilogramm schwer werden. Genauere Angaben finden sich über den Hausen, der bei 9 m Länge bis 1400 kg wiegt. Daraus könnte man schätzungsweise den Energieverbrauch zu 0,265 kg/cal pro Tag ableiten, also eine ungeheuer kleine Wärmemenge. Das Wachstum der großen Tiere muß daher auch ungeheuer lange Zeit in Anspruch nehmen¹⁾.

Nach meinen Untersuchungen stimmen die Kalorienwerte bei den Säugern, wenn sie auf 1 qm Oberfläche gerechnet werden (bei gleicher Lufttemperatur für Hunger und Ruhe), auch für die verschiedenen Spezies fast überein.

Bei den Fischen sind doch nennenswerte Schwankungen, sie können zum Teil beruhen auf ungleicher Lebhaftigkeit der Tiere, zum Teil auf Verbrauch von Nahrung, welche die Tiere noch in den Versuch herübergenommen haben, obschon ich beabsichtigte, sie im Hungerzustand zu untersuchen, und endlich auf spezifische Eigentümlichkeiten der untersuchten Spezies. Die Differenzen sind aber nicht so groß, als daß man nicht die Berechtigung anerkennen dürfte, die Oberflächenberechnung auch auf ungleich schwere Fische anzuwenden.

Ein Vergleich der Fische mit den Säugern fällt hinsichtlich der Wärmebildung pro 1 qm sehr zuungunsten der ersteren aus. Die Säuger liefern im Tage bei 16° Lufttemperatur und 37 bis 40° Körpertemperatur rund etwa 1000 kg/cal, der Fisch im Mittel nur 3,3 Proz. dieser Wärmemenge (bei 16°).

¹⁾ Oberfläche eines Tieres 112630 qcm = 1400 kg; 1 kg = 80,4 qcm. bei Fischen treffen auf 1 qm 33080 g/cal pro Tag bei 16°; also auf 1 qm 3,31 g/cal, 80,4 qcm × 3,31 g/cal = 0,265 kg/cal pro Tag und Kilogramm.

Ganz anders liegt es bei einem Vergleich mit der Hefe. Letztere hat, worauf ich schon mehrfach hingewiesen habe, eine ungeheuer große Oberfläche, während die Wärmebildung jedenfalls in einem ganz von den Säugern abweichenden Verhältnis zur Oberfläche steht.

Die Hefe liefert¹⁾ bei 30° 0,8 pro 1 qm und Tag, auf 16° zum Vergleich mit den Fischen umgerechnet etwa 0,68 kg/cal; die Fische erzeugen, wenigstens auf die Oberfläche gerechnet, 48,5mal mehr Wärme als die Hefe.

Dies besagt, worauf ich schon vor vielen Jahren hingewiesen habe, daß man die Vorstellungen von der Oberflächenwirkung nicht generalisieren und jedenfalls nicht auf die Einzelligen ohne weiteres anwenden darf. Zwischen Hefen und Bakterien finden sich, was ich gezeigt habe, zwar große Verschiedenheiten der Oberfläche, aber keine entsprechenden Unterschiede in der Wärmebildung.

Eine der wichtigsten Lebensbedingungen der Kaltblüter ist die Temperatur der Gewässer. Über diese Verhältnisse gibt uns die Ozeanographie sehr wichtige allgemeine Aufschlüsse.

Die Temperatur der Ozeane erreicht in den Tropen etwa 28° mit Abnahme nach der Tiefe, in den arktischen Teilen erreicht die Temperatur der Oberfläche z. B. im europäischen Nordmeer an 8 bis 9°, mit Wintertemperaturen von — 2°, im Barentzmeer liegen auch die Sommertemperaturen niedriger wie im Nordmeer.

Für die Fische ergeben sich hieraus auch die Extreme der Temperatur, der sie in den Ozeanen ausgesetzt sind; jedenfalls können sie auch in den Tropen der hohen Wärme ausweichen, indem sie nach der Tiefe gehen.

Daraus folgt dann selbst, daß ihre Organisationen auch nur diesen Temperaturintervallen angepaßt sind und daß namentlich Warmblütertemperaturen für sie (von Binnenseen usw. abgesehen) nicht in Frage kommen.

Im Atlantischen Ozean führt die Isotherme 16° im August von Neufundland etwa nach Island und die 12°-Isotherme an den Färöerinseln vorbei etwa nördlich von Norwegen. Mächtige fischreiche Distrikte kommen also über 12 bis 16° Wassertemperatur nicht hinaus. Der Kaltblüter bzw. der Fisch hat etwas besonders Eigenartiges in seinem Stoffwechsel, das einer Betrachtung wert erscheint, zumal es bisher nicht erwähnt worden ist, ich meine die Art und Bedingungen seiner Arbeitsleistung.

Jeder Beobachter kann sich überzeugen, daß viele Fische und gerade diejenigen, welche die besten Schwimmleistungen aufweisen,

¹⁾ Rubner, Ernährungsphysiologie der Hefezelle, S. 257.

in dieser Fähigkeit selbst im Wasser, das nur ein paar Grade über Null steht, sofort zu blitzschnellen Bewegungen befähigt sind. Das ist, wie ich meine, eine höchst merkwürdige Erscheinung. Wie niedrig der Stoffwechsel und Energieverbrauch in der Nähe von 0° ist, dafür gibt die vorliegende Darstellung ausreichende zahlenmäßige Angaben. Und aus diesem minimalen Stoffwechsel heraus schwillt plötzlich der Energiewechsel durch die Arbeit an, wie ja die Leistung des Schwimmens zeigt. Das eiskalte Protoplasma gewinnt durch den Nervenreiz die Fähigkeit zu anscheinend maximalster Leistung. Das Schnellen der Lachse, das eingangs erwähnt wurde, wird auch von Tieren in kältesten Gewässern ausgeführt. Welche Temperaturänderungen im Körper der Tiere dabei auftreten, ist nur in einzelnen Fällen bekannt, z. B. bei größeren Fischen, die in Meeren mit höheren Wassertemperaturen sich aufhalten. Es kann dahin kommen, daß die Körperwärme stark steigt, so daß sie bei gefangenen Fischen sogar der Hand des Fischers fühlbar wird. Aus alledem muß man auf eine weitgehende Unabhängigkeit des Ruhestoffwechsels des Muskels der Fische zum Arbeitsstoffwechsel schließen, indem der erstere mit der Temperatur variiert, die Leistungsfähigkeit des Muskels anscheinend aber nicht.

Vergleiche genauerer Art an dem Warmblütermuskel anzustellen, dazu fehlen meines Erachtens die nötigen Unterlagen. Der Nachweis, daß bei großen und kleinen Tieren bei mittlerer Arbeit für jedes Meterkilogramm bestimmter Leistung der Nutzeffekt derselbe ist, hat mit der absoluten Leistungsfähigkeit und Körpergröße nichts zu tun. Auch für die Behauptung, daß der Arbeitsaufwand wie die Körperoberfläche zunehme, ist nicht zu beweisen, wenn auch für manche einfachen Arbeitsformen, wie das Schwimmen im Wasser, wahrscheinlich.

Die einzigen vergleichenden Angaben von *Gerstner* über die Zugarbeit beim Menschen, Esel, Maulesel, Pferd zeigen nach einer Durchrechnung, die ich vorgenommen habe, pro 1 qm zwischen Mensch (70 kg) und Pferd (375 kg) bei letzterem doppelt so große Leistungen, und pro 1 kg Energieumsatz eine Sekundenmeterkilogramm-Leistung beim Menschen von 0,005 fortschreitend als höchsten Wert, beim Pferde 0,0116. Hier kommt nach meiner Meinung mehr die spezifische Veranlagung für eine bestimmte Arbeit zum Ausdruck und kein von Masse oder Oberfläche abhängiges Gesetz.

Die absolute Größe der Muskelleistung beim Schwimmen kennen wir bis heute noch nicht, ja es fehlt sogar an allen Grundlagen, eine solche Leistung auch nur abzuschätzen; jedenfalls ist aber zu vermuten, daß die Kraftleistungen und der Energieverbrauch doch analog beim Warmblüter zu schätzen sein dürften. Schließlich ergibt sich das auch aus den schon erwähnten starken Steigerungen der Körpertemperatur.

Einer solchen Störung des Wärmegleichgewichts begegnen die Tiere durch die gewaltige Fähigkeit des Wassers der Umgebung, die Wärme abzuleiten. Der große Fisch produziert geringere Wärme als der kleine, hat aber dafür eine relativ kleinere Oberfläche, so daß für gleiche Flächen gleichviel Wärme abströmt.

Neben diesen aus Wuchsform, Größe und relativer Stoffwechselintensität sich ergebenden Verhältnissen verfügen die Fische wohl auch über eine Art von aktiv eingreifender Wärmeregulation gegen Überheizung, eine Einrichtung, die der physikalischen Wärmeregulation der höheren Tiere entspricht. Die Kiemenatmer besitzen zweifellos in dem Wasserstrom, den sie durch die Kiemen schicken, ein sehr wirksames Mittel der Kühlung. Die Untersuchungen von *Winterstein* haben zahlenmäßige Angaben über die Größe des Wasserstromes durch die Atemorgane ergeben, aus denen die Bedeutung der Kühlmöglichkeit klar zutage tritt¹⁾.

Die durchschnittliche Wasserspülung der Kiemen läßt sich aus einigen Zahlen bei *Winterstein* ableiten. Ich entnehme der Tabelle S. 88 nur die fünf längsten Beobachtungen (30 Minuten) für Fische von 122 bis 170 g Lebendgewicht. Daraus kann man berechnen: Mittelgewicht des Tieres 137 g, Temperatur 17,4°, stündliche Wasseratmung 3,272 Liter. Also folgt pro 1 kg Tier und Tag 573,7 Liter geatmetes Wasser. Es läßt sich nunmehr auch ersehen, wieviel dieses Wasser pro 1 qm Oberfläche der Tiere ausmacht, was uns dann die Möglichkeit eines Vergleichs mit der durchschnittlichen Wärmeproduktion verschafft.

Ein Fisch von 137 g Gewicht hat eine Oberfläche von 239,1 qcm, auf 1 kg Tier = 1745 qcm Oberfläche und wie oben 573,7 Liter geatmetes Wasser, auf 1 qm Oberfläche also 3229 Liter geatmetes Wasser.

Die Wärmebildung bei den Fischen beträgt bei 16° Wasserwärme pro 1 qm und Tag 33,08 kg/cal.

Wenn 3229 Liter Wasser um 1° erwärmt werden, so können sie 3229 kg/cal Wärme aufnehmen. Um die Gesamtwärmeproduktion aufzunehmen, braucht aber das Atmungswasser, das durch die Kiemen geht, nur um 0,0102° erwärmt zu werden, wenn auch alle Wege des Wärmeverlustes durch die Haut geschlossen sein würden. Bei hohen Temperaturen des Wassers und des Fisches und bei Arbeitsleistung hat diese Art von Regulation der Leibestemperatur natürlich auch eine Grenze ihrer Leistungsfähigkeit, immerhin wird sie außer dem allgemeinen Verlust durch die Haut ein wesentlicher Faktor bleiben, der bei großen wie bei kleinen Tieren im gleichen Grade die Gefahren der Überreizung hindert.

¹⁾ Pflügers Arch. 125, 88, 1908.

Die Quelle der Energie für die Arbeit wird bei vielen Fischen von den Verhältnissen bei anderen Tieren nicht verschieden sein, im allgemeinen wird viel animalische Kost aufgenommen, also werden Fett und Eiweiß die Nahrungsquelle sein. In der Entwicklung mancher Fische, wie bei den Lachsen, kommen langdauernde Hungerperioden vor, wobei drei Viertel der Energie aus Eiweiß und der Rest aus Fett entnommen wird. Für die große Zahl der Magerfische ergibt sich allerdings aus der Leibesbeschaffenheit von selbst, daß hier das Eiweiß der überwiegende Nahrungsstoff sein und deshalb auch zur Quelle der Muskelkraft werden muß.

Manche Spezies enthalten so wenig Fett, wie Tiere, die dem Hungertode verfallen sind. Zwei Beispiele mögen hierfür genügen. Nach *Inaba* (l. c., S. 3) sind in 100 Teilen Trockensubstanz:

	N	Fett	Asche
Beim normalen Hecht	12,77	3,98	18,11
Bei einer verhungerten Schleie .	10,58	2,32	31,10
Kabeljau nach <i>König</i>	—	1,40	—

Die logische Folge eines solchen Körperzustandes und der dabei verzehrten eiweißreichen Nahrung ist eine erhebliche spezifisch-dynamische Wirkung der Kost. Da beim Kaltblüter eine kompensatorische Wirkung einer Wärmeregulation (chemischer) nicht besteht, muß sich die spezifisch-dynamische Wirkung sehr deutlich ausprägen. Dies würde auch bei den Experimenten und bei dem Vergleich der Fische untereinander wohl zu berücksichtigen sein, da die spezifisch-dynamische Wirkung Unterschiede im Energieverbrauch um 20 bis 30 Proz. bedingen kann.

Mit der stärkeren Arbeit muß unter normalen Verhältnissen auch die *Nahrungsaufnahme steigen und gleichmäßig müssen deshalb auch alle Organe für die Verdauung in Tätigkeit treten*. Bei niedriger Temperatur werden diese wenig leisten, wenn unsere Vorstellungen, daß die Leistungen bei ihnen auch allein von der momentanen Temperatur beherrscht werden, zutreffen. Möglicherweise aber sind auch für die Verdauung im Zusammenhang mit der Arbeit nervöse Einflüsse das Bestimmende für die Erhöhung der Organarbeit, die sie entgegen unseren dem Warmblüter entlehnten Vorstellungen vermehren.

Die Annahme von *Zuntz*, daß die Verdauungssäfte bei Fischen schon bei mäßiger Temperatur nicht mehr wirksam seien, kann allgemein nicht zutreffend sein, da z. B. in dem fischreichen polaren Eismeer überwiegend die Sommertemperaturen des Wassers um wenig über Null, die Wintertemperaturen aber sogar unter Null fallen.

Das Wachstum steht natürlich in enger Beziehung zur Nahrungsjagd, also wieder zur Bewegung der Tiere, wie zur herrschenden Tem-

peratur. Wie sich das Wachstum in den Polarregionen verhält, darüber habe ich Angaben nicht finden können. Es scheint mir aber nicht ausgeschlossen, daß die Bewegung eine wachstumsfördernde Komponente darstellt, indem sie den Stoffwechsel im allgemeinen in Betrieb erhält, und zwar auf einer höheren Stufe, als etwa jener entspricht, welche bei der betreffenden Wassertemperatur im Ruhezustande sich finden würde.

Das Wachstum der Fische.

Die Fische sind ein bedeutsames Weltnahrungsmittel, im besonderen für die Deckung des Eiweißbedarfs. Die Ozeane geben eine unerschöpfliche mühelose Aufzucht, während die Stromfischerei im Binnenlande vielfach große Einbuße durch den Raubfang erlitten hat. Trotz dieser hohen Bedeutung des Fischfangs für den Menschen sind die Kenntnisse des Wachstums im allgemeinen dürftig und für wissenschaftliche Verwertung meist unverwendbar. Natürlich drängt sich jedem, der die Fische auch nur nach Äußerlichkeiten beurteilt, die Tatsache der Langsamkeit der Wachstumsvorgänge auf. Wissenschaftlich will man aber doch etwas tiefer in die Erforschung dieser Prozesse eingehen können. Manche meinen, das Wachstum der Fische sei eigentlich unbegrenzt und daure das ganze Leben hindurch, während wir beim Warmblüter scharf begrenzte, relativ kurze Wachstumsperioden besitzen. Auch die Frage, ob das Wachstum unter normalen natürlichen Verhältnissen gleichmäßig weitergeht oder unterbrochen durch Ruhepausen, ob es weiter von der Temperatur des Wassers, in dem die Tiere leben, wesentlich abhängt, und vieles andere wird man zu erforschen haben.

Eine ausgezeichnete Arbeit morphologischer Natur über das Wachstum der Kaltblüter in Abhängigkeit von der Temperatur besitzen wir von *Oscar Hertwig*, die ich aller weiteren Betrachtung gewissermaßen als Einleitung voranschicken will, obgleich dieselbe sich nicht auf die Fische selbst bezieht. *Hertwig* hat die Wachstumsverhältnisse vom morphologischen Standpunkte aus bei Fröschen, von der Zeit der Befruchtung beginnend, studiert¹⁾. Die ersten Entwicklungsmöglichkeiten für das künstlich befruchtete Ei (bei *Rana fusca*) gehen auf 0 bis 10° Temperatur herunter, die Wachstumsmöglichkeit besteht also bei Temperaturen, bei denen das reife Tier völlig im Dämmerzustande und *Winterschlaf* sich befindet. Die natürliche Befruchtung erfolgt aber zu Zeiten mit höherer Temperatur, wodurch die Wachstumsgeschwindigkeit einerseits vermehrt und die Wahrscheinlichkeit normaler Entwicklung am größten wird. Gute Entwicklung kann nämlich nach *O. Hertwig* erst von 6° Temperatur ab erwartet werden.

¹⁾ Arch. f. mikroskop. Anatomie 1, 319, 1898.

Hertwig hat sowohl das Wachstum der ersten Teilungen, als auch die Ausbildung des Embryos und der Larven (Kaulquappen) verfolgt.

Von Interesse sind die Ergebnisse für die erste, zweite und dritte Verdopplung der Zellen. Aus den Angaben von *O. Hertwig* lassen sich, wenn man die bei 3 und 5⁰ gemachten Versuche zusammenlegt (4⁰ Mittel), bemerkenswerte Schlüsse ziehen.

Mittel der Zeiten, nach denen eine Verdopplung eingetreten ist:

	Erste Teilung 2 Zellen	Zweite Teilung 4 Zellen	Dritte Teilung 8 Zellen
Bei 24 ⁰	130 Min.	160 Min.	205 Min.
" 15 ⁰	180 "	250 "	335 "
" 4 ⁰	456 "	734 "	1053 "

Daraus ergibt sich als Zeit für je eine Teilungsperiode:

	Erste Teilung	Zweite Teilung	Dritte Teilung
Bei 24 ⁰	130 Min.	30 Min.	45 Min.
" 15 ⁰	180 "	70 "	85 "
" 4 ⁰	456 "	278 "	319 "

Die erste Teilung erfordert ungemein viel Zeit. Die Verteilung der Spermatozoen, Anordnung des Protoplasmas für die Teilung, die Quellung beansprucht eine größere Dauer. In der zweiten und dritten Teilung sehen wir schon den üblichen Verlauf.

Innerhalb normaler Grenzen wirkt die Temperatur gleichmäßig verlangsamend oder beschleunigend auf die Phasen der Ausbildung. Das Wachstum hat man früher als ausschließliche Äußerung des Lebens der Mikroben vor allem in der Bakteriologie betrachtet. Fast alle Züchtungsmethoden waren gewissermaßen ja Wachstums- und Erneutstudien. Man hat auch mehrfach an einzelnen Zellen die Zeitdauer der *Verdopplung* festgestellt, als Maßstab der Geschwindigkeit des Wachstums. Diese Darstellung hat auch *O. Hertwig* hier gewählt, sie ist dann von mir und anderen für den Wachstumsprozeß beibehalten worden. Die Verdopplungszeit kann als ein einfacher und prägnanter Ausdruck für den Wachstumsverlauf überhaupt angesehen werden. Voraussetzung bleibt dabei, daß die erzeugten Zellen wirklich zwei neue Lebensseinheiten von gleicher Zusammensetzung sind, was nicht immer der Fall sein dürfte.

Ob die Verdopplungszeit beim Froschei lang oder kurz ist, läßt sich nur durch Vergleich mit anderen biologischen Daten feststellen. Wir wählen am besten die Verdopplungszeit für einzellige Bakterien und Hefen. Diese gelten als besonders rasch wachsend. Für eine Bakterienart, deren Teilung genauer verfolgt ist, nehmen wir für 25⁰ 82 Minuten als Verdopplungsperiode. Nach meinen eigenen Versuchen an Hefen dauert die Verdopplung der Zellmasse bei 24⁰ 6 Stunden

30 Minuten = 390 Minuten. Die Verdopplungszeit der Zellen von *Rana fusca* nach der Befruchtung mit einer Verdopplungszeit von 30 bis 45 Minuten kann sich also sehr gut mit den Einzelligen messen, allerdings vorausgesetzt, daß diese Verdopplungen wirklich eine Verdopplung der lebenden Substanz herbeigeführt haben. Weiter möchte ich bemerken, daß die mikroskopischen Beobachtungen als Zellteilung das Einschieben einer Querwand ansehen, während *meine* Angaben nach Gewichtsbestimmungen des Stickstoffs berechnet sind. Das macht wesentliche Unterschiede, im Moment der Querteilung sind nämlich noch nicht die Massen von eins auf zwei vermehrt, die Teilstücke brauchen vielmehr noch Zeit, um zu Zellen normaler Größe auszuwachsen. Aber auch unter Berücksichtigung dieser Bedenken erweist sich die Wachstumsgeschwindigkeit der von *Hertwig* untersuchten Zellen von Wirbeltieren, d. h. der Eier der Frösche, als recht groß und vielleicht vielen Einzelligen völlig gleichwertig, was mir eine recht wichtige, bisher unbekannte Tatsache zu sein scheint. Daraus kann man eine Reihe bedeutungsvoller Konsequenzen ziehen.

Die weiteren Untersuchungen *Hertwigs* beziehen sich auf die späteren Entwicklungsstadien und auf die Feststellung der Zeitdauer, welche bei verschiedenen Temperaturen notwendig ist, um bestimmte morphologische Typen beim Embryo und der Larve hervorzurufen. Es ergibt sich aus *Hertwigs* Mitteilungen: Alle Stadien der Entwicklung werden in *gleicher* Weise bei niedriger Temperatur gehemmt, bei höherer gefördert. *Oskar Schultze* hat gezeigt, daß das Wachstum auch eine Unterbrechung erfahren darf. Froscheier z. B., im Gastrulastadium 14 Tage auf 0° bis zum Wachstumsstillstand abgekühlt, können trotzdem später normal zu Froschlarven werden. Gefährlich sind nur rasche Abkühlungen auf niedrige Temperaturgrade.

Die *Reihenfolge der Entwicklungsstadien* ist also, unabhängig von der Temperatur, eine feststehende. Bei bestimmter Temperatur dauert es eine genau begrenzte Zeit, bis eine Wuchsform nach der anderen entsteht. Die Zeit der Morulabildung, Gastrulabildung, Organbildung, Ausbildung der Larve, Ausschlüpfen, die Vollendung des Larvenstadiums ist *streng und gleichartig* geordnet. Das innere Wesen der Entwicklungsmechanik kennen wir nicht.

Den morphologischen Änderungen werden mannigfache Umwandlungen des Stoffwechsels entsprechen, sie werden aber auch einen Ausdruck im Gesamtenergieverbrauch finden, der ja von den Wandlungen spezifischer Vorgänge in den Organen unabhängig sich erweist. Die Größe des Energieverbrauchs wird also von dem ganzen Werdegang und Aufbau eines Organismus mit abhängig sein und unter dem Einfluß von Einwirkungen stehen, welche diese Größen modifizierend ändern.

In so frühem Stadium *O. Hertwig* das Wachstum betrachtet hat, lassen sich eine Reihe von Stoffwechselfeststellungen quantitativer Natur, wie sie wünschenswert sind, heute noch nicht anstellen. Ich halte es aber nicht für ausgeschlossen, daß man auch diese Frühstadien experimentell, physiologisch noch eingehender studieren wird, da sich eine Methodik für diese Zwecke meiner Meinung nach wird ausbauen lassen.

Ich beschränke mich also auf das Studium des Wachstums schon etwas größerer Objekte, die immerhin noch einer sehr jungen Brut entsprechen.

Das Wachstum kann rein statistisch verfolgt werden durch Feststellung der Gewichtszunahme, oder man kann die physiologischen Vorgänge zahlenmäßig zergliedern nach Wachstumsgeschwindigkeit. Materialverbrauch und nach den energetischen Verhältnissen, wie ich dies zuerst für Säuger und in das Detail der Anwuchsvorgänge hinein für die Hefe getan habe, bei der sich das Wachstum an der Einzelzelle selbst verfolgen ließ.

Auf die Fische ist die von mir zuerst geübte Betrachtungsweise des Wachstums bis jetzt überhaupt nicht angewandt worden. Brauchbares Material habe ich für das Nachfolgende allerdings auch nur in sehr beschränktem Maße gefunden.

Zu lösen sind zwei Fragen, einmal das Studium der Wachstumsvorgänge der Fische an sich, und dann soll versucht werden, Parallelen zwischen dem Wachstum der Kaltblüter und der Säuger zu finden.

Die Fische werden, wie auch andere Tiere, eine „normale Wachstumskurve“ haben, konstruiert man sich eine solche, so sieht man allerdings mehr ein proportionales Ansteigen mit der Zeit und nur in den ersten Anfängen einen anderen Verlauf. Letzterer hängt ab vom Nahrungsbedarf, der gebotenen Nahrungsmenge, vom Gewinn an Nahrung und Verwendung zum Aufbau, von den Beziehungen des Betriebsstoffwechsels zum Aufbau. Diese höchst verwickelten Verhältnisse und zahlreichen Variablen habe ich beim Säuger wie bei der Hefe auf ganz einfache gesetzmäßige Beziehungen zurückführen können und dieselben bei allen untersuchten Säugern auch bestätigt gefunden. Alles Eingehen auf die Wachstumsverhältnisse beruht auf der wichtigen Tatsache, die von mir zuerst für die Mikroben erwiesen worden ist, daß Wachstum und Assimilation niemals ohne gleichgültigen Abbau von Stoffen, d. h. ohne Betriebsstoffwechsel vorkommt. Bei dem Einzelligen geht dem Wachstum voran die Aufspeicherung von Körperstoffen. und erst wenn der ordnungsmäßige Ablauf einer Teilung sichergestellt ist, beginnt der Teilungsprozeß, wie ich bei der Hefe mit aller Sicherheit zeigen konnte¹⁾. Die Eier der Wirbeltiere bringen an sich schon das

¹⁾ Rubner, Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle.

Material für die Teilung mit sich, oder die Eier befinden sich im mütterlichen Organismus unter Bedingungen, welche die notwendige Nahrungsversorgung garantieren.

Wenn trotzdem die Eier sich nicht immer sofort nach der Befruchtung entwickeln und, wie wir sahen, auch die Kaltblütereier zur ersten Teilung viel länger brauchen wie zu nachfolgenden Verdopplungen, so liegt das in diesen Gründen, die wir zum Teil kennen, jedenfalls nicht am Nahrungsmangel.

Das Wachstum bei den Säugern ist natürlich besser geordnet als das aller anderen Tiere, weil sie extrauterin wenigstens von der Mutter eine genau regulierte Menge und besonders zusammengesetzte Nahrung in der Milch erhalten, beim Vogel haben wir den Eiinhalt als Nahrung. Bei den Kaltblütern ist aber meist die Nahrung von der Mutter nicht sehr bedeutend und reicht, soweit es Dotterreste sind, über die erste Ausbildung der kleinen Tierchen nicht weit hinaus.

Die Nahrungsversorgung aus der Umwelt ist notwendig, aber wahrscheinlich nicht immer so regelmäßig und reichlich, wie es sein sollte. Wahrscheinlich spielt die Bewegung der Tiere nicht nur für die Nahrungsversorgung selbst, sondern auch für die Hebung der Ernährung im allgemeinen eine bedeutende Rolle. Das sich bewegende Tier muß in seiner ganzen Zellmasse einen Anreiz zur Tätigkeit erfahren, denn der „Raub“, der einem Fisch geglückt ist, muß doch verdaut, aufgelöst und den Organen zugeführt werden.

Dann aber vollzieht sich genau dasselbe, was ich schon für die Beziehung zwischen Arbeit und menschlichem Wachstum a. a. O. gesagt habe, es findet eine Auslese der Nährstoffe statt, Fett und Kohlehydrate werden bei der Leistung verbrauchter Arbeit verwendet und die Nahrung wird reicher an Eiweiß, was gerade für das Wachstum in frühen Perioden der Entwicklung und, wie bei den Erwachsenen, zur Regeneration des Eiweißverlustes von größter Bedeutung ist.

Beweglichkeit und Jugend gehören also zusammen aus Gründen des erleichterten stofflichen Aufbaues.

Wir werden in folgendem von dem Wachstum als Einheit sprechen, wir dürfen aber nie vergessen, wenn wir nur die Massengewinne ins Auge fassen, daß morphologische Zellteilungen, Streckung und Vergrößerung von Zellen, Neubildung von Organen und Abbau solcher, neben- und hintereinander verlaufen, und daß neben dem Organaufbau aus Eiweißstoffen, ganz getrennt davon, nach eigener Ordnung die Füllung des Fettgewebes vorkommt, welche an dem Massenaufbau der einzelnen Perioden ganz wesentlich beteiligt sein kann.

In der Massenbildung liegen beim Wachstum einige zahlenmäßig festzustellende Besonderheiten, auf die man bis jetzt nicht aufmerksam geworden ist, obschon sie sich leicht hätten feststellen lassen. Faßt

man das Wachstum im Sinne einer fortschreitenden Verdopplung der Masse der befruchteten Zellen auf, so gewinnen wir von diesem Standpunkte aus eine Reihe wichtiger Einblicke in den Wachstumsvorgang überhaupt.

Der Wachstumsverlauf beim Säuger ist objektiv nur faßbar vom Zeitpunkte der Geburt an, die intrauterinen Vorgänge sind nur lückenhaft bekannt, beim Kaltblüter z. B., dem Fische, mit dem wir uns beschäftigen wollen, haben wir die ganze Entwicklung, von der Befruchtung anhebend, vor uns. Es ist also von Interesse, auch die Größen der Säuger vom Standpunkte der Verdopplung ihrer Körpermasse zu beurteilen. Am zutreffendsten wäre es vielleicht, von der Größe der Eier als Anfangspunkt auszugehen. Doch findet man dafür nur in einzelnen Fällen Maßangaben. Ich lege daher das Gewicht eines bestimmten Eies für alle anderen zugrunde, nämlich 0,5 mg. Die vor kommenden größeren Eier bei Kaltblüter, beim Hering 4,42 mg wiegend, mögen vielleicht auch noch Nährstoffe enthalten. Auf die weiteren Betrachtungen ist es ohne Belang, ob wir noch ein paar Teilungen hinzuzulegen haben oder nicht.

Bei jedem Tiere macht die Verdopplung der Masse nach einer bestimmten Zahl derselben halt. Die maximalen Fälle ergeben sich für den Elefanten von 3500 kg Gewicht nach einer 32,707maligen Verdopplung des Eigewichtes¹⁾, bei dem wohl größten Fische, dem Stör, von 1400 kg Gewicht nach einer Verdopplungszahl von dem 31,385fachen.

Bei den Säugetieren findet man:

	Gewicht der Ausgewachsenen kg	Gewicht der Neugeborenen kg	Verdopplungs- zahl bis zur Geburt	Verdopplungs- zahl im ganzen	Extrauterine Verdopplung
Pferd . .	500	50	26,312	29,747	3,434
Mensch .	60	3,2	22,634	26,841	4,207
Hund . .	11	0,225	19,096	24,393	5,297
Katze . .	3,8	0,087	17,075	22,866	5,791
Meer- schweinchen	0,6	0,050	16,611	20,196	3,585
Maus . .	0,025	0,0008	10,644	15,611	4,967

Die Hauptzahl der Verdopplung wird im Mutterleibe durch gemacht, mindestens eine 10,6fache (z. B. bei der Maus). Die Zahl der Verdopplungen im extrauterinen Leben ist gering, sie bewegt sich zwischen einer 3,4- und 5,79maligen. Selbstredend ist die Körpermasse, die im extrauterinen Leben gebildet wird, die größte, die dazu

¹⁾ Bei einem Walfisch mag die Organmasse bei 150000 kg Lebendgewicht etwa 60000 kg betragen, was schätzungsweise einer 36maligen Verdopplung des Eigengewichtes gleichkäme.

notwendige Zeit auch die längste. Die Tragzeiten und die Verdopplungshäufigkeit lehren, daß die ersten Verdopplungen sehr rasch erfolgen, die späteren nur langsam. Man bilde die Quotienten $\frac{\text{Verdopplungszahl}}{\text{Tage der Tragzeit}}$, so hat man:

	Tragzeit in Tagen	Verdopplungs- zahl	Auf 1 Tag Tragzeit treffen Verdopplungen
Pferd	340	26,312	0,074
Mensch	280	22,634	0,080
Hund	63	19,096	0,303
Katze	56	17,078	0,35
Meerschweinchen	59 ¹⁾	16,611	0,28
Maus	21	10,644	0,507

In den ersten Verdopplungsperioden ist, wie aus anderen Beobachtungen, die ich angestellt habe, hervorgeht, sowohl der Anwuchs wie der Dissimilationsprozeß gesteigert. Außer dem Anwuchs von Eiweiß und allenfalls Fett findet eine allmähliche Reduktion des Wassergehaltes statt²⁾.

Im Vergleich mit den Warmblütern will ich nunmehr das allerdings spärliche Material der Kaltblüter, das namentlich für die folgenden Untersuchungen von Wichtigkeit ist, anführen.

Die maximalsten Fischgewichte werden für den Stör angegeben (*Brehm*), der bis zu 1400 kg erreichen kann. Dies entspricht einer Verdopplungshäufigkeit von 31,385. Für den Lachs und Hecht ergeben sich nachstehende Zahlen vom Anfang der Entwicklung zum ausgewachsenen Zustand.

Lachs.		Hecht.	
Gewicht kg	Verdopplungs- zahl	Gewicht kg	Verdopplungs- zahl
1,5	14,182	0,070	17,096
3,0	22,518	0,140	18,096
6,0	23,518	0,280	19,096
45,0	26,426	0,560	20,097
		1,120	21,104
		2,240	22,097
		25,0	26,063

Der Hecht als Magerfisch interessiert besonders, da hier eine Komplikation der Massenbildung durch Fettablagerung ausbleibt. Die beiden gewählten Beispiele würden in der Tabelle der Säuger

¹⁾ Korrigierte Zahl der Entwicklung des Eies, die etwa eine Woche nach der Befruchtung beginnt.

²⁾ Ber. d. Akad. d. Wiss. 1923 und der vorhergehenden Abhandlung.

zwischen dem Menschen und Hunde dem Gewicht nach einzuordnen sein. Beim Lachs würden die Gewichte von 1,5 bis 3 kg etwa der Vermehrung des Säugers in der Fötalzeit entsprechen. Beim Hechte die Zahlen bei etwa der 20. Verdopplung.

Das Wachstum stellt jedenfalls bei vielen Fischen nicht jene kontinuierliche Reihe der Massenzunahme dar, wie dies bei den Warmblütern der Fall ist. Bei Wanderfischen werden sich sicher, je nach den verschiedenen Orten ihres Aufenthaltes, die Ernährungsbedingungen nach Temperatur des Wassers und Nährstoffgehalt desselben ändern können. Das Wachstum zieht sich sehr viele Jahre hin. Das macht es verständlich, daß man an eine so zeitraubende Arbeit, wie die streng experimentelle Durchforschung dieses Gebietes nicht herangetreten ist. Andererseits scheint es doch wichtig, gerade deshalb über die Kaltblüter etwas Näheres zu erfahren. Eine Grundfrage scheint mir die zu sein, ob der Kaltblüter die Nahrung im Anwuchs besser oder schlechter ausbeutet wie der Warmblüter. Das langsame Wachstum könnte ja a priori in diesem Sinne gedeutet werden.

Zahlenmäßige Angaben über die Zeit des Wachstums sind auffallend spärlich oder auch nur approximative, die eine wissenschaftliche Verwendung nicht zulassen. Bei den Säugern sind wir viel besser unterrichtet¹⁾. Auch da konnten sich meine Untersuchungen nur auf eine beschränkte Anzahl von Tieren und den Menschen und nur auf die Verhältnisse des Wachstums in der Zeit der ersten Verdopplung nach der Geburt erstrecken.

Dabei haben sich aber als wesentliche Ergebnisse folgende Tatsachen ergeben:

1. Daß die Säuger in dieser Entwicklungsperiode — den Menschen ausgenommen — etwa denselben Nahrungsüberschuß über ihren Betriebsstoffwechsel aufnehmen.

2. Daß sie von der Gesamtnahrung, welche sie verzehren, etwa denselben Prozentsatz — im Mittel 34,32 Proz. — der Kalorien als Anwuchs verwerten und das übrige verbrennen.

3. Hat sich ergeben, daß für die Umwandlung von 1 kg Tier auf 2 kg die Menge des Energieverbrauchs im Betriebsstoffwechsel bei allen Tieren — den abnorm langsam wachsenden Menschen ausgenommen — fast dieselbe ist und um die Zahl von 4000 kg/cal schwankt, wenn man Anwuchs und Betriebsstoffwechselverbrauch zusammenrechnet. Ich habe das als energetisches Grundgesetz des Wachstums bezeichnet.

4. Daraus folgt, daß Wachstum und Betriebsstoffwechsel zusammen vorhanden sind. Der Gewinn an Anwuchs beim Säuger erweist sich

¹⁾ Rubner, Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehung zum Wachstum und zur Ernährung, 1908.

bei großen wie kleinen Tieren in derselben Entwicklungszeit (den Menschen ausgenommen) konstant.

Wie gesagt, weiter als über die erste Verdopplung der Geburt ließen sich meine Untersuchungen im Jahre 1908 nicht ausdehnen. Aber es war sicher, daß bei den späteren Verdopplungen sowohl der Nutzeffekt der Nahrung kleiner, wie der Aufwand an Energie für die Neubildung größer werden müssen, bis das Wachstum eben vollendet ist. Daß intrauteriner Betriebsstoffwechsel und Wachstum größer sind als bei der Geburt, haben inzwischen die Untersuchungen von *Langstein* und mir an Frühgeborenen gezeigt. Ferner sind durch die Untersuchungen von *C. Thomas* die Grundlagen einer exakten Berechnung des Wachstums ermöglicht, weil *Thomas* die Zusammensetzung des Tierkörpers für Hund und Katze genau festgestellt und die Gewichtsentwicklung systematisch verfolgt hat. Die von *C. Thomas* 1911 ausgeführten Untersuchungen lassen eine solche Berechnung durchführen und geben uns genaue Analysen der Tierkörper. Dieses wertvolle Material lege ich folgender Berechnung zugrunde.

Das Gewicht des wachsenden Hundes (Geburtsgewicht 225 g) habe ich in Kurvenpapier eingetragen und die kleinen Unebenheiten abgeglichen, um daraus genau die Zeiten für die Verdopplung von 225 bis 3600 g entnehmen zu können.

Sie sind:

1.	Verdopplung		10	Tage
2.	„		12,5	„
3.	„		22,5	„
4.	„		40,0	„

Die Mutter wog 11 kg, das männliche Tier war unbekannt, so daß sich das wahrscheinliche Endgewicht der ausgewachsenen Tiere nicht angeben läßt. Vier gleich schwere Tiere wurden aufgezogen und das eine nach der ersten, das zweite nach der zweiten usw. Verdoppelung getötet und der ganze Organismus analysiert, das Fell untersucht, d. h. die Oberfläche gemessen.

Die Oberflächenkonstante war:

225 bis 450 g Tiergewicht		9,4
900 g Tiergewicht		10,17
1800 g „		10,55
3600 g „		11,02

Den Energieverbrauch der Tiere habe ich nach ihrer Oberfläche berechnet (1 qm bei Hunden 1040 kg/cal pro Tag bei 15°), für die obigen absoluten Größen wurden erhalten: 36,2, 57,5, 98,6, 162,7, 269,1 kg/cal pro Tag und Kilogramm Geburtsgewicht 160,5 kg/cal.

Schluß der 1. Verdopplung.	. . .	127,7	kg/cal	pro Tag
„ „ 2.	„ . . .	109,6	„ „ „	
„ „ 3.	„ . . .	901,3	„ „ „	
„ „ 4.	„ . . .	74,7	„ „ „	

In 1 kg frischer Organmasse war:

	Trocken- substanz	N	Fett	Verbren- nungswärme ohne Fett kg/cal	Das Fett allein
Geburt	199,2	23,1	13,8	760,8	181,4
Schluß der 1. Verdoppl. . .	263,3	21,4	91,0	901,7	855,4
" " 2. "	315,9	22,1	133,4	845,2	1253,0
" " 3. "	294,8	26,0	129,7	740,02	1220,0
" " 4. "	315,5	28,3	83,9	986,0	788,6

Daraus ergeben sich die Veränderungen, wenn 1 kg Tier auf 2 kg gewachsen ist. Für jede der so berechenbaren vier Anwüchse hat man:

	Trocken- substanz	N	Fett	Verbrennungs- wärme ohne Fett kg/cal	Fett allein kg/cal
	526,6	42,8	182,0	1603,4	1710,8
	199,2	23,1	13,8	760,8	188,4
Anwuchs 1. Verdopplung . .	327,4	19,7	168,2	842,6	1529
	631,8	44,2	266,8	169,04	2506
	26,33	21,4	91,0	84,52	1253
Anwuchs 2. Verdopplung . .	368,5	22,8	175,8	845,2	1253,—
	589,6	52,0	260,0	1480,0	2444,—
	315,9	22,1	133,0	845,2	1253
Anwuchs 3. Verdopplung . .	273,7	29,9	127,0	634,8	1191
	631,0	56,6	167,8	1972	157,7
	294,8	26,0	129,7	740	122,2
Anwuchs 4. Verdopplung . .	336,2	30,6	38,1	1232	355

Nunmehr läßt sich der Gesamtverbrauch pro Verdopplung von 1 kg auf 2 kg berechnen.

	kg/cal pro kg Tier Betriebs- stoffwechsel	kg/cal von 1,5 kg	Verdopp- lungszeit Tage	Summe der Kalorien	Dazu Ansatz aus Organ kg/cal	Dazu Ansatz aus Fett kg/cal
I. Periode						
Anfang .	160,5	144,0	214	10	2140	2983
Ende . .	127,7					
II. Periode						
Anfang .	127,7	118,6	177,9	12,5	2223	3068
Ende . .	109,6					
III. Periode						
Anfang .	109,6	100,0	150,0	22,5	3375	4010
Ende . .	90,3					
IV. Periode						
Anfang .	90,3	82,5	123,7	40,0	4948	6180
Ende . .	74,7					

¹⁾ Ich habe früher durch Schätzung den Energieverbrauch für Hunde zu 3855 kg/cal angenommen. Der obige größere Wert erklärt sich durch den sehr großen Fettansatz.

In der dritten Verdopplungsperiode nimmt das Wachstum bereits ab, der Betriebsstoffwechsel geht unverändert weiter, der Gesamtenergieverbrauch für eine Verdopplung steigt also an.

In analoger Weise wurden die Ergebnisse von *C. Thomas* für *Katzen* von mir berechnet, abweichend war nur, daß die dritte und vierte Verdopplung des Gewichtes nicht getrennt analysiert wurden.

Das Geburtsgewicht des Tieres, dessen Berechnung gegeben werden soll, war 87 g.

Dem Geburtsgewicht entsprechend von 87 g sind die Verdopplungen auf 174, 348, 696, 1392 g für die Berechnung zugrunde gelegt. Im Laufe der Entwicklung sind vier Oberflächenbestimmungen gemacht worden, welche vom Geburtsgewicht am Ende des Versuches nacheinander die Zahlen für $K = 9,96, 10,02, 9,53, 9,98$ ergeben haben; die Zahlen erweisen sich so wenig verschieden, daß man im Mittel 9,87 verwenden kann. Die aus der graphischen Darstellung entnommenen Verdoppelungszeiten des Gewichtes sind:

Dauer der erstmaligen . 7,5 Tage | Dauer der drittmaligen . 22,0 Tage
 „ „ zweitmaligen . 12,0 „ | „ „ viertmaligen . 53,0 „

Die analytischen Zahlen sind pro Kilogramm folgende:

	Trocken- substanz	N	Fett	Verbrennungs- wärme ohne Fett	Fett allein
Geburt	196,1	21,96	16,51	818,7 ¹⁾	151,8 ²⁾
Ende 1. Verdopplung	203,3	20,79	39,60	753,3	364,2
„ 2. „	261,9	24,04	70,07	882,2	653,2
„ 4. „	333,5	32,07	79,76	1173,6	733,7

Hieraus lassen sich die bei einer Verdopplung sich ergebenden Zuwüchse beim Wachstum ableiten.

Pro Verdopplung eines Kilogramms der Katze.

	Trocken- substanz	N	Fett	Verbrennungs- wärme ohne Fett	Fett allein
Geburt	406,6	41,58	97,2	1506,6	303,6
Anwuchs 1. Verdopplung .	196,1	21,96	16,5	818,7	151,8
	210,5	19,62	62,7	687,9	151,8
	523,8	48,08	141,94	176,44	1306,4
	203,3	20,79	39,60	753,3	364,2
Anwuchs 2. Verdopplung .	320,5	27,29	102,34	1011,1	942,2
	595,4	56,10	150,4	2055,8	1387,0
	261,9	24,04	70,97	882,2	653,2
Anwuchs 3. Verdopplung .	333,5	32,06	79,77	1173,6	73,38
	666,5	64,14	159,52	234,72	1467,6
	297,7	28,05	57,37	1027,9	693,5
Anwuchs 4. Verdopplung .	368,8	38,09	102,15	1319,3	773,9

¹⁾ Und fettfrei 154,3, 142,0, 166,3, 221,2. 1 g = 5,306 kg/cal.

²⁾ Fett direkt bestimmt, 1 g = 9,2 kg/cal.

Der Gesamtenergieverbrauch pro Verdopplung von 1 auf 2 kg ergibt sich wie folgt:

	Betriebsstoffwechsel kg kcal pro kg und Tag	kg kcal für 1,5 kg	Verdopp- lungszeit	Summe der Kalorien	Dazu Anwuchs als Organ kg kcal	Dazu Anwuchs an Fett kg kcal
I. Periode						
Anfang .	268,8	226,4	339,6	7,5	2547	3235
Ende . .	184,1					
II. Periode						
Anfang .	184,1	165,0	247,0	12	2964	3975
Ende . .	145,9					
III. Periode						
Anfang .	145,9	124,9	187,3	22	4121	5295
Ende . .	104,0					
IV. Periode						
Anfang .	104,0	104,0	156,0	53	8268	9587
Ende . .	103,9					

Die beiden Versuchsreihen ergeben folgende Resultate:

Kilogrammkalorienverbrauch bei einer Verdopplung von 1 auf 2 kg.

Periode	Hund			Katze		
	Betriebsstoffwechsel	Dazu Ansatz aus Organ	Dazu Ansatz von Fett	Betriebsstoffwechsel	Dazu Ansatz aus Organ	Dazu Ansatz von Fett
1. Verdopplung	2140	2983	4522	2547	3235	3387
2. "	2223	3068	4321	2964	3975	4917
3. "	3375	4010	5191	4121	5295	6029
4. "	4948	6180	6535	8268	9587	10361

Der Energieaufwand für die Verdopplung ergibt verschiedene Werte, je nachdem man nur den Eiweißansatz oder auch noch den Fettansatz mit in Betracht zieht, die Werte inklusive Fett entsprechen den von mir früher angegebenen (Hund 3855, Katze 4029), die eine Trennung zwischen Eiweiß und Fettansatz nicht hatten durchführen lassen. Bei der dritten und vierten Verdopplung sind Unterschiede vorhanden zwischen Hund und Katze. Die letztere nähert sich nämlich im extrauterinen Leben langsamer dem Wachstumsende wie der Hund.

Die dem extrauterinen Leben vorangehende letzte Periode des intrauterinen Lebens wird in Analogie zum Menschen niedrigere Werte des Energieaufwandes für die Verdopplung geben, weil die Wachstumsquote wie auch Betriebsstoffwechsel, und zwar erstere stärker als der letztere ansteigt.

Bei der Hefe ist die Wachstumsquote maximal nahezu zwei Drittel (s. die Ernährungsphysiologie der Hefezelle 5, 235), ob die tierischen Gewebe in ihrer ersten intrauterinen Entwicklung so bedeutende Quotienten erreichen, ist bis jetzt nicht bekannt. Die Wachstumsquote der Säuger erster Verdopplung im intrauterinen Leben habe ich oben zu 34 Proz. angegeben.

Ich kehre nunmehr zur Betrachtung des Wachstumsaufwandes bei einer Verdopplung des Gewichtes eines Fisches zurück. Die Beantwortung dieser Frage für die Kaltblüter hat auch praktische Bedeutung. Am geeignetsten wäre stets die Beobachtung der Tiere unter natürlichen Verhältnissen. Ich glaube an zwei Beispielen eine Lösung des gestellten Problems durchführen zu können. Bei *Brehm* finde ich Angaben über die *Gewichtszunahme des Lachses* nach praktischen Beobachtungen¹⁾. Die Verdopplungszeit eines 1 bis 5 kg schweren Fisches beträgt wohl ein Jahr, die weiteren Anwüchse erfolgen noch langsamer. Ich habe die Zahlen von *Brehm* graphisch dargestellt, wobei man — die Zeit als Abszisse und die Gewichte als Ordinate genommen — einen geradlinig verlaufenden Anstieg des Gewichtes findet. Aus dieser Darstellung habe ich die Zahlen für eine zweimal sich wiederholende Verdopplung des Gewichtes entnommen. Für die Zusammensetzung des Körpers des Fisches lege ich die bei Schleien ausgeführten Analysen zugrunde. Außer dem Anwuchs hat man noch notwendig, den Betriebsstoffwechsel festzustellen, der sich gleichfalls aus den Mittelzahlen für die Schleien ableiten läßt, sie weichen übrigens vom Gesamtmittel für Fische fast nicht ab.

Der Lachs, als fetthaltiger Fisch, ist an sich als Versuchsobjekt weniger für die Berechnung geeignet als ein Magerfisch. Die Zahlen sollen daher nur als erste *Annäherung* einer solchen Zergliederung des Wachstumsprozesses gelten.

Zieht man die Tabelle auf S. 253 über die Verdopplungsperiode beim Wachstum heran, so läßt sich leicht feststellen, daß der Lachs von 3 kg Gewicht etwa bei einem Säuger dem „Geburtsgewicht“ entsprechen würde. Diese Verdopplung des Lachses von 1,5 auf 3 kg würde also noch auf die „intrauterine Periode“ fallen.

Auf Grund dieser Annahmen ergibt sich folgendes (für 16°).

Verdopplung des Gewichtes von 1,5 auf 3 kg²⁾:

	kg	N g	Fett g	Trockensubstanz g	kg/cal ³⁾
Tiere von . . .	3,0	66,0	44,1	538,8	2566,0
„ „ . . .	1,5	33,0	22,0	269,4	1283,0
Zuwachs . . .	1,5	33,0	22,1	269,4	1283,0
Verdopplung des Gewichtes von 3 kg auf 6 kg					
Tiere von . . .	6,0	32,0	88,2	1077,6	5132,0
„ „ . . .	3,0	66,0	44,1	538,8	2566,0
Zuwachs . . .	—	66,0	44,1	538,8	2566,0

¹⁾ Brehms Tierleben, Fische, S. 267. — ²⁾ 17,96 Proz. Trockensubst. 100 Teile trocken = 12,27 N = 8,21 Fett. 100 frisch 2,20 N, 1,47 Fett. — ³⁾ 100 Teile Trockensubstanz 476,3 kg/cal.

Der Betriebsstoffwechsel beträgt pro 1 qm 31,5 kg/cal pro Tag.
 Körpergewicht 1,5 = 1179 qcm $\times$ 31,5 = 3,70 kg/cal = 2,46 pro 1 kg
 3,0 = 1872 „ $\times$ 31,5 = 5,90 „ = 1,96 „ „
 6,0 = 2972 „ $\times$ 31,5 = 9,36 „ = 1,56 „ „

Anwuchszahlen pro Tag:

I. Periode:

0,0931 N, 0,0605 Fett, 0,73 g Trockensubstanz, 3,39 kg/cal

II. Periode:

0,097 N, 0,0636 Fett 0,777 g Trockensubstanz 3,70 kg/cal

Betriebsstoffwechsel:

I. Periode:

$\left. \begin{array}{l} 3,70 \\ 5,90 \end{array} \right\} = 4,88 \text{ kg/cal, im Mittel } 0,0931 \text{ N, Anwuchs } 3,39 \text{ kg/cal}$

II. Periode:

$\left. \begin{array}{l} 5,90 \\ 9,36 \end{array} \right\} = 7,63 \text{ kg/cal, im Mittel } 0,0970 \text{ N, Anwuchs } 3,70 \text{ kg/cal}$

Bei der Nahrungsaufnahme kommt noch in Betracht, daß diese aus $\frac{3}{4}$ Eiweiß und $\frac{1}{4}$ Fett besteht, woraus sich die spezifische dynamische Wirkung ableiten läßt.

Man hat dann:

I. Periode:

Betriebsstoffwechsel.	4,81 kg/cal pro Tag
Spezifisch-dynamische Wirkung .	1,28 „ „ „
Ansatz	3,39 „ „ „

Summe . . 9,48 kg/cal pro Tag

Im Ansatz 35,6 Proz. der Nahrung.

II. Periode:

Betriebsstoffwechsel.	7,63 kg/cal pro Tag
Spezifisch-dynamische Wirkung .	2,03 „ „ „
Ansatz	3,70 „ „ „

Summe . . 13,36 kg/cal pro Tag

Im Ansatz 27,7 Proz. der Nahrung.

Der Nutzeffekt, wie er sich hier ergibt, im Mittel 31,6 Proz., bewegt sich innerhalb der Größen, wie sie bei Säugern in der ersten Zeit des extrauterinen Lebens von mir zuerst nachgewiesen worden sind. Wenn die Lachse bis 40 und 41 kg erreichen können, so würde ein Tier von 1,5 kg als ein sehr junges bezeichnet werden können, so daß man also wohl berechtigt ist, eine Parallele zu den jungen Säugern zu stellen. Da der Lachs wensschon ein fetter Fisch ist, so trägt jedenfalls der Umstand, daß er eine nicht fettreiche Kost erhält, dazu bei, daß im Wachstum nicht viel Fett angesetzt wird, was dann auch die Kalorienzahl für den Nutzeffekt etwas vermindert. Das Wachstum scheint demnach in betreff der Anwuchsquote beim Lachs nicht anders als

bei den Warmblütern zu verlaufen, nur sind die Zeiträume für alle Veränderungen schier ins Endlose gedehnt.

Bei dem Wachstum der Warmblüter habe ich, wie schon gesagt, zuerst nachgewiesen, daß bei der ersten Verdopplung des Gewichtes der Gesamtaufwand an Betriebsstoffwechsel + Anwuchskalorien bei der Umwandlung von Tieren von 1 zu 2 kg — den Menschen ausgenommen — nahezu dieselbe Größe gibt. Je kleiner das Tier, um so lebhafter das Wachstum und um so kürzer die Verdopplungszeit. Die erhaltene Konstante macht etwa 4000 kg/cal aus.

Bei einem Fische haben wir ein außerordentlich langsames Wachstum, ob dieses aber ernährungsphysiologisch auch nur entfernt zahlenmäßig den Säugern ähnlich ist, vermag man von vornherein kaum zu sagen. Ich habe daher versucht, die beiden vorliegenden Schätzungen auch in dieser Hinsicht durchzurechnen. Man erhält dann folgende Werte:

I. Periode:

Zeit 1 Jahr, Betriebsstoffwechsel (bei 1,5 kg Gewicht) .	1350 kg/cal
Dazu kommt der Ansatz von 1 kg	855 „
Summe	2202 kg/cal

II. Periode:

Zeit 693 Tage, Betriebsstoffwechsel	1766 kg/cal
Dazu Ansatz von 1 kg	852 „
Summe	2618 kg/cal

Bei der natürlich nicht scharfen Zeitbegrenzung legt man am besten beide Werte zusammen, dann hat man als energetischen Wert für eine Gewichtsverdopplung 2410 statt 4000 bei den Säugern. Beim Fische bedeutet die Verdopplung aber nur einen Gewinn von 852 kg/cal, beim Säuger eine solche von 1722 kg/cal, weil die Verbrennungswärme der Säuger dem höheren Fettgehalt entsprechend größer ist.

Zahlenangaben über das Wachstum einiger Fische finden sich im Dict. de Physiol. 4 von *Richet*, für Aal, Karpfen und Hecht. Die ursprünglichen Werte habe ich auf Millimeterpapier übertragen und die Kurven ausgezogen und durch Interpolation dann die folgenden Zahlen gefunden. Das Gewicht unter 70 g habe ich der Gleichheit wegen außer Betracht lassen müssen. Ob die Beobachtungen sich auf gleiche Wassertemperaturen beziehen, ist leider nicht angegeben.

Aal		Karpfen		Hecht	
Tage	Gewicht g	Tage	Gewicht g	Tage	Gewicht g
365	75	597	72	447	70
438	150	730	144	821	140
555	300	890	288	1124	280
745	600	1139	576	1460	650
2105	2400			3252	2240

Es wird zweckmäßig sein, sich der Zusammensetzung dieser Tiere zu erinnern (nach *Königs* Tabellen). Der Flußaal hat 41,29 Proz. Trockensubstanz und in 100 Proz. Trockensubstanz 29,29 Proz. Protein und 65,75 Proz. Fett, der Karpfen gefüttert 26,53 Proz. Trockensubstanz, 62,89 Proz. Protein und 32,91 Proz. Fett, nicht gefüttert 22,09 Proz. Trockensubstanz, 85,80 Proz. Protein und 8,37 Proz. Fett, der Hecht 20,37 Proz. Trockensubstanz, 90,59 Proz. Protein und 2,42 Proz. Fett. Der Aal zeigt nicht nur Gewichtszunahme, weil sein Zellenbestand wächst, sondern vor allem deshalb, weil er an Fett zunimmt.

Analysen über die Aale verschiedener Entwicklungszeit sind mir nicht bekannt. Ähnlich liegt die Sache beim Karpfen, der auch bei künstlicher Nahrung leicht fettreich wird. Brauchbar als „Versuchstier“ ist aber der Hecht, der zu den Magerfischen gehört, für ihn liegen genaue Analysen von *Inaba* aus meinem Laboratorium vor. 100 Teile geben 19,34 Trockensubstanz (für das ganze Tier), und 100 Trockensubstanz 12,77 N, 3,98 Fett und 448,2 kg/cal. Die viel höheren N-Werte, die sich aus den Tabellen *Königs* errechnen, können nicht richtig sein.

Für 1 kg Hecht nehme ich an 25,33 g N, 7,7 g Fett und 889,2 kg/cal. Der Kalorienwert ist den Werten für Säugetiere ganz erheblich nachstehend.

Zuwüchse für eine Verdopplung betragen:

Gewicht g	Tage	N	Fett	kg/cal
140	821	3,546	9,8	124,88
70	547	1,773	4,9	62,44
I. Periode	274	1,773	4,9	62,44
280	1124	7,092	19,6	249,76
140	821	3,546	9,8	124,88
II. Periode	303	3,546	9,8	124,88
560	1460	14,184	39,2	499,52
280	1124	7,092	19,6	249,76
III. Periode	336	6,292	19,6	249,76
1120	2073	28,368	78,4	999,04
560	1460	14,184	39,2	499,52
IV. Periode	613	14,184	39,2	499,52
2240	3252	56,736	156,8	199,898
1120	2073	28,368	78,4	99,904
V. Periode	1179	28,368	78,4	999,04

Für einen Tag beträgt der Zuwachs in absoluten Werten:

N g	Fett g	kg/cal	N g	Fett g	kg/cal
0,0064	0,0179	0,228	0,0231	0,0640	0,815
0,0116	0,0323	0,412	0,0242	0,0665	0,847
0,0215	0,0583	0,743			

Der *Betriebsstoffwechsel* wurde nur durch Ableitung der Oberfläche und unter Zugrundelegung von 3,15 g-Cal pro 1 qcm (s. oben) errechnet.

Die *Oberflächen* sind für:

70 g		152,8 qcm
140 g		233,0 „
280 g		384,9 „
500 g		611,4 „
1120 g		970,0 „
2240 g		1540,0 „

Der Mittelwert des Betriebsstoffwechsels ist für die fünf Gruppen:

Gruppe 1		0,608 kg/cal pro Tag
„ 2		0,658 „ „ „
„ 3		1,57 „ „ „
„ 4		2,491 „ „ „
„ 5		4,070 „ „ „

Der *Gesamtenergieverbrauch* setzt sich nunmehr zusammen a) aus dem Betriebsstoffwechsel (B), b) aus der spezifisch-dynamischen Wirkung (S) (26,6 Proz. des Betriebsstoffwechsels für den hohen Eiweißverbrauch des Magerfisches) und dem Ansatz (A) von Körpermasse. Man erhält dann:

I. Periode.	B		0,608
	S		0,161
	A		0,228
			0,997
II. Periode.	B		0,658
	S		0,175
	A		0,412
			1,245
III. Periode.	B		1,57
	S		0,418
	A		0,743
			2,733
IV. Periode.	B		2,498
	S		0,462
	A		0,815
			3,768
V. Periode.	B		4,07
	S		1,08
	A		0,847
			5,997

Vom Umsatz werden zum Aufbau verwendet:

I. Periode	22,8 Proz.	} 27,7 Proz.
II. „	33,1 „	
III. „	27,2 „	
IV. „	21,6 „	
V. „	14,1 „	

Die drei ersten Werte nähern sich ziemlich den Größen, die sich bei Säugetieren finden (34 Proz.), jedenfalls ist es in hohem Maße überraschend, eine so weitgehende Annäherung an die Warmblüter zu finden. Was dartut, daß die Wachstumsverhältnisse beim Kaltblüter nur durch den langgestreckten zeitlichen Verlauf sich unterscheiden. Bei Verfolgung des Wachstums unter die Gruppe von 70 g würde man sicher noch höhere Anwuchswerte finden als diese und wie oben beim Lachs.

Die Menge der verbrauchten Kalorien, welche bei der Verdopplung des Gewichtes des Hechtes umgesetzt werden, berechnet sich wie folgt:

	Mittel- gewicht	Betriebs- kalorien pro Tag	Kalorien pro 1 kg	Kalorien pro 1½ kg	Dauer der Periode	Betriebs- stoff- wechsel	Wachs- tum	Gesamt- energie
I. Periode	105	0,608	5,79	8,68	274	2378	889	3267
II. „	210	0,658	3,13	4,69	303	1421	889	2310
III. „	420	1,57	3,74	5,61	336	1884	889	2773
IV. „	843	2,498	2,98	4,42	613	2709	889	3598
V. „	1680	4,070	2,42	3,63	1179	4279	—	5162

Wie zu erwarten war und wie die Versuche an Säugern oben gelehrt haben, zeigt sich in einer der Perioden ein Ansteigen des Energieverbrauchs, und zwar in der fünften Periode. Bis dahin sind die Werte zwar etwas schwankend. Zweifellos hat in der ersten und zweiten Periode vielleicht durch große Mängel der Zeitbestimmung eine Erhöhung zugunsten der ersten Verdopplung stattgefunden, was selbstverständlich eine Verkleinerung der Zahl der zweiten Periode liefert. Die Mittelzahl von erster und zweiter Periode ist = 2785, also ein Wert, der genau zur dritten Periode paßt; dies zugegeben, beginnt dann die Steigerung der Werte schon in der vierten Periode.

Da der Energieverbrauch des Fisches ein sehr niedriger ist, so fördert der Wachstumsquotient auch nur einen in absoluter Zahl kleinen Gewinn an Gewicht, diese Vorgänge sind aber genau so abgestuft, daß die Länge der Zeit den geringeren Werten des Energiewechsels angepaßt ist und das Produkt dasselbe bleibt wie bei den Säugern. Aus den schon vorher erörterten Gründen kommen wir freilich nicht auf etwa 4000 kg/cal für eine Verdopplungszeit, sondern auf etwa 2780. Der Hecht, fettarm wie er ist, setzt beim Wachstum eben nur Organmasse an, und diese hat 889 Cal gegenüber den Säugern, bei denen 1 kg Körper etwa 1782 kg/cal repräsentiert.

Der leichteren Übersicht wegen habe ich nachfolgende Tabelle zusammengestellt.

Zusammenstellung.

Energieverbrauch bei einer Verdopplung des Gewichtes von 1 auf 2 kg im Wachstum in Kilogrammkalorien ohne Berechnung des Fettesatzes.

	Katze			Hund			Hecht		
	Absol. Gewicht g	Zeit Tage	Energie- ver- brauch	Absol. Gewicht g	Zeit Tage	Energie- ver- brauch	Absol. Gewicht g	Zeit Tage	Energie- ver- brauch
Geburtsgew.	87	0	—	225	—	—	70	—	—
1. . .	174	7,5	3235	450	10	2983	140	274	3267
2. . .	348	12,0	3975	900	12,5	3068	280	303	2310
3. . .	696	22	5295	1800	22,5	4010	560	336	2773
4. . .	1392	53	9587	3600	40,0	6180	1120	613	3598
5. . .	—	—	—	—	—	—	2240	1179	5162

Die Entwicklungszeit bis zu Beginn obiger Berechnung beträgt:

Tragzeit bei der Katze 56 Tage

Tragzeit beim Hund 63 „

Entwicklungszeit bei Hecht etwa 547 „

Die Zusammenstellung ergibt:

1. Daß bei der Katze in der dritten Verdopplungsperiode der Nutzeffekt der Anwuchsbildung stark sinkt, praktisch ausgedrückt würde das heißen: Die Futtermengen zur Produktion von 1 kg steigen stark an.

Beim Hunde stimmen die Zahlen der ersten Verdopplung für den Energieverbrauch befriedigend mit der Katze überein. Bei der dritten extrauterinen Verdopplung beginnt der Nutzeffekt der Fütterung erheblich zu sinken. Die Tiere verlassen den Leib der Mutter, wenn sie sonst entwicklungsfähig sind, entwicklungsfähig im Sinne ihrer Lebensdauer, trotzdem sie noch Unterschiede der Lebensbereitschaft zeigen; das Meerschweinchen ist gewissermaßen überreif, Hund und Katze, Maus sind bei der Geburt noch unreif.

Ein Säuger von dem Gewicht eines ausgewachsenen Hechtes (25 kg) wird bei der Geburt etwa 20 bis 21 Teilungen hinter sich haben, also zwischen der dritten und vierten Teilung der Berechnung stehen und in der fünften Teilung schon deutlich den verminderten Effekt bei der Auffütterung zeigen.

2. Der Nutzungsquotient beträgt beim fettreichen Lachs 31,6 Proz., bei dem Hechte als Magerfisch 27,7 Proz. Im letzten Falle fehlt der Fettesatz ganz, der bei den Säugern den Energiequotienten bedeutend erhöht.

Bei aller Reserve, die ich mir bei der Beschränktheit des zugrunde liegenden Materials auferlegen muß, glaube ich bewiesen zu haben,

daß die Grundzüge des Wachstums bei den Fischen genau dieselben sind wie bei den Säugern. Die Stoffwechsel- und Energiewechselgesetze sind offenbar keine anderen als bei den höher stehenden Tieren. Die zukünftige Forschung wird eine Fundgrube für die Vertiefung wissenschaftlicher Arbeit auf dem Gebiete des Lebens der Kaltblüter finden. Voraussetzung muß sein, daß die Methoden der Ernährungsphysiologie allgemein mehr Anwendung finden und das dilettierende Herumtasten zurücktritt.

Was den Stoffwechsel der Fische anlangt, so hat sich gezeigt, daß er da, wo nicht ein völlig fettarmer Körper vorliegt, genau wie bei den Warmblütern und in den auch dort vorkommenden Relationen zwischen Eiweiß und Fett verläuft. Hinsichtlich der Quantitätsverhältnisse haben sich pro Kilogramm Tier gewaltige Unterschiede ergeben. Je kleiner die Spezies, um so mehr an Energie wird relativ verbraucht. Es besteht in dieser Hinsicht völlige Parallele zu den Warmblütern.

Diese Ungleichheiten ließen sich ausscheiden, wenn man anstatt von der Masse, von der Oberfläche der Tiere ausgeht. Die Frage, ob die Oberflächenentwicklung die Ursache der Größe der Wärmebildung sei, wird hier nicht erörtert und bleibt für die Ergebnisse an Amphibien und Reptilien vorbehalten.

Die mittleren Ergebnisse der Wärmebildung für Fische bei 16° betragen pro 1 qm und Tag 30,8 kg/cal. Der Energieverbrauch entspricht dem, was man den „Basalstoffwechsel“ genannt hat; falls Nahrung und Bewegung ausgeschlossen sind. Da der Energieverbrauch bei mageren Tieren hauptsächlich mit viel Eiweiß und wenig Fett gedeckt wird, wird der Stoffwechsel gefütterter Tiere, wie oben gesagt, besonders durch die spezifisch-dynamische Wirkung des Eiweißes erhöht. Mit den Schwankungen der Temperatur ändert sich der Energieverbrauch erheblich, für 1° Zunahme um 8 bis 10 Proz., wie schon bekannt.

Verglichen mit einem Säuger, ist der Energieverbrauch beim Fische sehr gering. Wenn man den Verbrauch der Säuger bei hoher Temperatur zugrunde legt, so mag er etwa 800 kg/cal pro Quadratmeter ausmachen, beim Fische bei 16° nur 30,8 kg/cal, also noch nicht 4 Proz. des ersteren. Beim Vergleich mit den Warmblütern bei 15 bis 16° Luftwärme macht der Kaltblüterstoffwechsel sogar nur 2,82 von ersterem aus. Man kann übrigens auch eine andere Form der Schätzung zwischen Kalt- und Warmblüter wählen, die sogar noch etwas mehr zuungunsten des Kaltblüters ausfällt.

Ein neugeborenes Kaninchen hat 60 bis 70 g Lebendgewicht. Ein Tierchen von 70 g liefert pro Tag 20,18 kg/cal und hat eine Lebensintensität, die ihm in 6 Tagen eine Verdopplung des Gewichtes erlaubt.

Der Hecht von 70 g braucht 274 Tage, um sein Gewicht zu verdoppeln, sein Energieaufwand müßte also 45,6mal so groß sein, um in kurzer Zeit die gleiche biologische Arbeit zu verrichten, wie sie die Kaninchen leisten. Es beträgt aber der Energieverbrauch des Hechtes nur 0,47 kg/cal pro Tag. Diese 0,47 · 45,6 geben in der Tat 21,4 kg/cal, was mit dem neugeborenen Kaninchen (20,2) bestens übereinstimmt.

In dieser Ungleichheit liegt, was man nicht vergessen darf, auch die Wirkung der ungleichen Temperatur, beim Kaninchen mit 39°, beim Fische nur 16°, es mag untersucht bleiben, ob der Temperaturunterschied allein die Ursache für den geringen Energieverbrauch ist. Über diese Frage der Beziehung des Energieverbrauchs von Kalt- und Warmblütern bei gleicher Leibestemperatur werde ich auch, nachdem die Verhältnisse bei Amphibien und Reptilien behandelt sind, Näheres zu sagen haben.

Die hauptsächlichsten und auffallenden Erscheinungen im Leben der Kaltblüter lassen sich wesentlich auf den geringen Energiewechsel und Betriebsstoffwechsel zurückführen. Darauf beruht das Langgedehnte in ihren Lebensprozessen. Und außerdem spielt die Möglichkeit des Lebens bei Temperaturen um den Nullpunkt bei den Fischen eine große Rolle, bei weitgehender Unempfindlichkeit auch der höheren Funktionen gegen diese Erniedrigung der Temperatur und die ungeschwächte Muskelkraft bei Eiseskälte.

Von einem Bestehen eines dauernden Wachstums hat sich nichts auffinden lassen, aber die hemmende Wirkung niederer Temperatur auf das Wachstum und den Energieverbrauch können sozusagen Wachstumspausen von fast unbegrenzter Dauer in dem sonstigen Gang des Wachstums einschieben. Daß sich bei so niedriger Temperatur Wachstums- und Betriebsstoffwechsel trennen, scheint nicht wahrscheinlich, denn nach den Versuchen über keimende Eier hält das Wachstum auch der Kälte stand.

Aus dem Leben des Kaltblüters.

II. Teil:

Amphibien und Reptilien.

Von

Max Rubner (Berlin).

(Eingegangen am 3. März 1924.)

A. Allgemein Biologisches und Energieverbrauch.

Amphibien und Reptilien gehören auch zu den Tieren, welche für den Ernährungsphysiologen kaum eine Verwendung finden können. Bei der Langsamkeit des Stoffwechsels und der Schwierigkeit der Ernährungswahl und Zwangsernährung hat man verzichtet, sich ihrer zu bedienen. Wir sehen daher auch, daß auch die wichtigsten und einfachsten Tatsachen über ihr Leben nur unvollständig bekannt sind. Davon macht selbst der „Frosch“, der sonst für Muskel- und Nervenphysiologie so wertvoll geworden ist, keine Ausnahme.

Wenn ich mich in folgendem diesem Gebiete zuwende, so kann mit Rücksicht auf die vorhergehende Darstellung des biologischen Verhaltens der Fische auf manches verzichtet werden, was sich sonst für die Untersuchung als notwendig erweisen dürfte.

Die Darstellung des Stoffwechsels der Kaltblüter in der vorherigen Abhandlung hat uns nach wesentlichen Richtungen hin Aufklärung gegeben. Ein besonderes Verhalten, das von den sonstigen Stoffwechselgesetzen abweichend wäre, hat sich bisher nicht ergeben.

Ebenso verläuft das Wachstum in seinen Grundprinzipien des erforderlichen Nahrungsüberschusses, des Anteils der Nahrung der zur Leibessubstanz wird, ferner hinsichtlich des Energieverbrauchs beim Aufbau für 1 kg Körpergewichtsgewinn, zahlenmäßig fast ebenso wie bei den von mir untersuchten Säugern; obschon die zeitlichen Verhältnisse völlig andere wie beim Warmblüter sind.

Die Unmöglichkeit, zurzeit die Wachstumsfragen bei Amphibien und Reptilien zu behandeln, fällt deshalb nicht so schwer ins Gewicht. es ist im höchsten Maße unwahrscheinlich, daß uns bei ihnen ganz andere, von Säugern und Fischen völlig verschiedene Prozesse entgegenreten sollten.

Dafür bieten Amphibien und Reptilien nach anderen Richtungen hin interessante Probleme. Während die Lebensäußerungen der Fische, soweit die Rückwirkung des Wassers in Betracht kommt, eine gewisse Einförmigkeit zeigen, treten bei den Amphibien und Reptilien eine Reihe neuer Erscheinungen auf, die vor allem in der Luftatmung ihren Ausdruck finden. In der Kiemenatmung haben wir einen Apparat kennengelernt, der unter Umständen zu einem Regulationsmechanismus, zum Ausgleich der Temperatur eines Tieres mit der Umwelt dienen kann.

Die Lungenatmung, für den Gasaustausch weit leistungsfähiger¹⁾, erlaubt außerdem durch die Wasserverdunstung, wie wir dies in ausgeprägter Form bei der physikalischen Regulation der Warmblüter sehen, einen weitgehenden Schutz gegen Überheizung und gestattet sogar den Aufenthalt in Räumen über Bluttemperatur ohne Schaden für das Leben.

Solange die Haut bei den Amphibien und Reptilien trocken bleibt, kommen ihr vermutlich ganz dieselben thermischen Eigenschaften zu wie bei den Säugern, natürlich modifiziert durch die Eigenart der Bedeckung der Haut (Haut der Krokodile usw). Thermisch wirksame Auflagerungen von Haaren usw. kommen noch nirgends in Betracht, die Haut ist durchweg nackt. Die Bestrahlung und Ausstrahlung kommt als neuer Faktor hinzu, der Wärmeleitungsverlust ist in Luft im Verhältnis zum Aufenthalt im Wasser sehr gering.

Die thermischen Bedingungen im Luftleben gestalten also viel mannigfaltiger als beim Aufenthalt im Wasser, auch die Extreme der Temperaturen, denen ein auf dem Lande lebendes Tier gewachsen ist, sind weiter gesteckt. Für den Fisch haben wir im allgemeinen nur Temperaturgrenzen zwischen $-2,5$ bis $+28^{\circ}$ als Lebensbereich gefunden.

Der Besonnung pflegen sich manche Tiere regelmäßig auszusetzen, wobei sie, wie für die Krokodile feststeht, sehr erhebliche Steigerungen ihrer Leibestemperatur vorübergehend erfahren, als Gegenstück haben wir auch wieder Spezies, welche gewissermaßen Schattentiere sind und der Erwärmung ziemlich aus dem Wege gehen. Manche bevorzugen den Aufenthalt im Wasser, andere den in der Luft. Vielerlei Eigen-

¹⁾ Im Süßwasser enthält bei 760 mm Druck 1 ccm Wasser 0,0247 Vol. Luft gleichen Druckes bei 10° 0,095, bei 20° 0,0170, bei 28° 0,0160 Luft, wovon mehr als ein Drittel Sauerstoff. Nach Winterstein (Pflügers Arch. 125, 76) erzeugt bei manchen Fischen ein Sauerstoffgehalt von 0,4 bis 0,5 im Liter Wasser schon Asphyxie, die maximale Ausnutzung des Sauerstoffs kann dabei bis 68 Proz. betragen. Demgegenüber ist natürlich die Luftatmung für die Tiere ein enormer Fortschritt der Entwicklung.

tümlichkeiten treten uns entgegen, deren Zweckmäßigkeit und Bedeutung bisher noch nicht klargelegt ist.

Auf das Wasserleben der Amphibien zur Zeit der Kiemenatmung gehe ich hier nicht weiter ein.

Die Wirkung der Temperatur für die Lebensvorgänge äußert sich bei den verschiedenen Spezies und Ordnungen ganz verschieden.

Bei den wechselwarmen Warmblütern nimmt mit dem Sinken der Leibestemperatur die Gesamtleistung ab, in erster Linie aber die Leistung des Zentralnervensystems. Die Tiere verfallen in den sogenannten Winterschlaf. Bei Temperaturen, die einem Fische und Amphibien und manchen Reptilien noch kein Hindernis für die durchschnittlichen Lebensäußerungen bereitet, zeigt das Murmeltier ein Tiefliegen seiner Funktionen. Auch bei den Poikilothermen begegnen wir aber manchen tiefgreifenden Unterschieden in der Leistungsfähigkeit. Es ist bekannt, daß z. B. Schlangen bei niederen Temperaturen völlig ungefährlich sein können, weil sie ihre Beweglichkeit einbüßen, auch von manchen Amphibien ist das gleiche bekannt, während z. B. Fische bei denselben Temperaturen, die andere Kaltblüter lähmen, durchaus lebhaft sind und keinerlei Hemmung ihrer motorischen Funktionen aufweisen, was nur möglich ist, wenn auch die Sinnesorgane die Wahrnehmung der Umgebung der Hindernisse, das Sehen der Beute usw. gestatten und die Ordnung des Gleichgewichtes in keiner Weise gestört ist. Ein Beispiel hierfür sind die Forellen, die im Wasser wenige Grade über Null lebhaft und bewegungsfähig sind. Ebenso bieten die Polarmeere, wie schon erwähnt, ihren Bewohnern in manchen ausgedehnten fischreichen Distrikten nur Temperaturen von 0 bis $-2,5^{\circ}$ im Jahre, wenn man von den Sommertemperaturen in seichtem Wasser an den Ufern absieht.

Jedenfalls würde eine Kurve, welche die physiologischen Leistungen in Abhängigkeit von der Leibestemperatur schildert, bei verschiedenen Tieren ganz abweichend sich gestalten.

Was die Zusammensetzung der Tiere anbelangt, so mögen nur kurz ein paar Beispiele gegeben sein.

Lacerta muralis ergibt für den ganzen Körper (nach *Inaba*) 26,012 Trockensubstanz und für 100 Teile Trockensubstanz:

N	10,93
Fett	17,01
Asche	14,92
Kilogrammkalorien	499,3

Die Frösche geben 23,32 Proz. Trockensubstanz und in 100 Teilen Trockensubstanz:

N	12,46
Fett	2,62
Asche	7,63

Eine Schildkröte lieferte für das ganze Tier 24,42 Proz. Trockensubstanz und in 100 Teilen Trockensubstanz:

N	11,13
Fett	8,49
Asche	18,0

Die fett- und aschefreie Substanz des gesamten Tierleibes liefert 5250 bis 5300 g/cal. Wir haben unter den gewählten Beispielen also hochgradig magere Tiere — die Frösche —, als mittelfette die Schildkröten und als fette Tiere die Eidechsen; Unterschiede also, wie man sie sowohl bei den Warmblütern wie bei Fischen finden kann, ganz nach der Lage der Ernährungsverhältnisse der Spezies. Eine Besonderheit ist der geringe Aschegehalt des Frosches. Die Haut des letzteren ist dünn, die der Eidechsen derb, aber ziemlich aschearm im Gegensatz zur Haut anderer Reptilien. Enthält doch die Haut der Blindschleiche auf 100 Teile Trockensubstanz 48,5 Teile Asche.

Auf 1 kg Körpergewicht trifft:

bei <i>Lacerta</i> nur	28,4 g N
„ Fröschen	29,0 g N
„ Schildkröten	27,1 g N

Die Unterschiede sind nicht erheblich; alle Zahlen liegen aber etwas niedriger, als man sie bei ausgewachsenen Säugern findet, doch höher als bei den Fischen.

Ich wende mich nunmehr den Stoffwechselfragen zu. Für die stofflichen Fragen selbst gibt es noch keine einigermaßen zureichenden Unterlagen, dagegen ist es möglich, den Gesamtenergieverbrauch einer Untersuchung zu unterziehen. So groß aber auch die Zahl in der Literatur zerstreuter Einzelbeobachtungen ist, so klein ist die Zahl der für vergleichend-physiologische Zwecke brauchbaren Experimente. Manche Beobachter bezeichnen die Tiere oft nur ganz allgemein als „Frosch“ oder „Schlange“. Andere geben das Gewicht der verwendeten Tiere nicht an, in einzelnen Fällen sind Temperaturangaben nicht beigelegt, wieder andere Berichte lassen nicht erkennen, ob es junge oder erwachsene Tiere gewesen sind, an denen experimentiert wurde.

Ungemein mannigfaltig ist auch das angewandte Versuchungsverfahren. Respiratorische Versuche von wenigen Minuten und wieder auch volle Tagesversuche kommen vor. Bestimmung der Kohlensäure, Bestimmung des Sauerstoffs oder beides, kalorimetrische Versuche. Über den Zustand der Luft, in der die Tiere waren (feucht oder trocken), erfährt man meist gar nichts. Ob die Tiere als gefüttert oder hungernd zu betrachten sind, erfährt man in der Regel auch nicht, ebensowenig über Ruhe- oder Bewegungszustand. Versuche, die den Stickstoffwechsel mit heranziehen, sind äußerst selten, und wo es geschieht, findet man nicht immer die nötigen ernährungsphysiologischen Kon-

trollen. Wenn nur einigermaßen methodisch vorgegangen würde, könnten wir heute auf diesem Gebiete schon viel weiter vorwärts geschritten sein.

Ich wende mich nunmehr der Frage des Energieverbrauchs der Amphibien und Reptilien zu und werde zunächst das in der Literatur vorliegende und geeignete Material berücksichtigen, wobei die Größe des Energieverbrauchs pro Kilogramm und außerdem zunächst auch die Frage der Wärmebildung pro Quadratmeter Oberfläche von Wichtigkeit ist. Auf die wirkliche Bedeutung der Oberfläche für den Energiewechsel komme ich am Schlusse der Arbeit zurück. In der Literatur der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts finden sich eine ganze Anzahl von Untersuchungen von *Pott* über die Kohlensäureausscheidung bei vielen Tieren, unter anderen auch von Amphibien. Sie sind ersichtlich mit dem Grundgedanken unternommen worden festzustellen, ob Jugend und Alter Verschiedenheiten der Kohlensäureausscheidung geben und enthalten eine Reihe von Beispielen, aus denen sich ergibt, daß pro Kilogramm Tier im Jugendzustande mehr Kohlensäure kommt als bei alten Tieren: Ja auch sogar diese positive Feststellung hat eine weitere Verwertung nicht gefunden und ist, glaube ich, so ziemlich ganz in Vergessenheit geraten. Ich habe das Zahlenmaterial von *Pott*, der ein methodisch guter Beobachter war, näher betrachtet, und da mir die Oberflächenberechnung der von *Pott* verwendeten Tiere nach meinen eigenen Bestimmungen möglich ist, so habe ich den Versuch gemacht, die Resultate *Potts* zur Lösung der Frage zu benutzen, ob sich nicht Beziehungen der Wärmebildung zur Oberfläche nachweisen lassen. Die Verwendung der Kohlensäurebestimmung zur Berechnung der Wärmebildung ist zwar, wie ich längst gezeigt habe, weniger einwandfrei wie jene aus der Sauerstoffzuführung, im vorliegenden Falle handelt es sich aber zweifellos um Tiere, deren Stoffumsatz wesentlich durch Eiweiß- und Fettzusatz gedeckt wurde, daher kann man pro 1 g CO₂ den kalorischen Wert von 2,89 kg/cal zugrunde legen.

	Lebend. gewicht g	CO ₂ pro kg und Stunde	Tem- peratur ° C	kg/cal pro kg und Stunde	kg/cal pro kg und Tag	Ober- fläche in qcm	Ober- fläche pro 1 kg	kg/cal pro Tag und 1 qm
<i>Lacerta ag.</i> . . .	0,8	3,12	17—20	9,02	216,4	9,45	11806	183,4
<i>Ran. Temp.</i> , jg. . .	1,26	1,27	19—20	3,67	88,1	5,68	4544	194,0
<i>Bufo cin.</i> , jg. . .	1,25	1,36	19	3,93	94,3	5,68	4544	207,5
<i>Bufo var.</i> , jg. . .	3,6	1,51	15—20	4,36	104,6	11,51	3194	327,4?
<i>Laubfrosch</i> . . .	11,7	0,37	21	1,07	25,80	25,25	2158	119,5
<i>Ran. Temp.</i> , alt. .	13,9	0,35	19—20	1,06	25,40	28,40	2043	124,3
<i>Bufo var.</i> , alt. .	16,0	0,43	19—21	1,25	30,0	29,80	1986	151,6
<i>Bufo ure.</i> , alt. .	49,0	0,34	13—15	0,97	23,3	65,60	1339	174,0

Von *Pott* sind nur die Kohlensäurebestimmungen gemacht worden. die weiteren Berechnungen rühren von mir her. Im Mittel aller Beob-

achtungen, unter Ausschluß aber der Messungen an *Bufo var.*, jung, erhielt man 164,9 kg/cal pro 24 Stunden und 1 qm bei 18,6° Temperatur. Vermutlich liegt bei *Bufo var.* ein Rechenfehler vor. Ich glaube, daß die Übereinstimmung der Zahlen eine durchaus befriedigende ist, um die Annahme zu rechtfertigen, vorläufig das Oberflächengesetz zugrunde zu legen, denn die großen Schwankungen der Kohlensäureproduktion pro Kilogramm verschwinden, wenn man die Werte auf gleiche Oberfläche reduziert. Ob die Abweichungen im einzelnen Speziesunterschiede sind, ist kaum zu sagen, da ja auch andere Umstände, von denen die Rede sein wird, noch mitsprechen können. Im allgemeinen hat *Pott* nur kleine Tiere untersucht.

Als eine sehr willkommene Ergänzung kann man zu *Potts* Versuchen die kalorimetrischen Versuche von *Krehl* und *Soetbeer* an größeren Amphibien heranziehen¹⁾.

Krehl und *Soetbeer* haben bei mit Wasserdampf reicher Lüftung des Kalorimeters ihre Tiere untersucht. Nach der Tabelle (S. 616), welche Gewicht und Kalorienmenge der Tiere angibt, habe ich durch Umrechnung nachstehende Zahlen erhalten.

Die Oberflächenberechnung für *Lacerta* läßt sich nach *Inabas* Konstante (12,6) durchführen. Den gleichen Wert wird man für *Alligator* und *Uromastix* beibehalten können. Für *Rana mugius* kann der von mir bestimmte Wert für Frösche (4,6) benutzt werden.

	kg/cal pro Stunde und kg	kg/cal pro Tag und kg	Gewicht des Tieres in g	Oberfläche in qcm	Pro kg Oberfläche qcm	Pro qm Oberfläche kg/cal
<i>Lacerta</i>	0,8	19,63	110	289	2627	74,7
<i>Ran. mug.</i>	0,5	12,0	600	327	545	220,2
<i>Alligat.</i>	0,3	7,0	1380	1562	1132	70,1
<i>Uromastix</i>	0,26	6,2	2150	1462	1169	42,7
<i>Lacerta</i>	1,50	36,0	110	289	2627	137,4
<i>Ran. mug.</i>	0,95	22,8	600	327	545	418,9
<i>Alligat.</i>	0,47	11,3	1380	1562	1132	99,6
<i>Uromastix</i>	0,40	9,6	1250	1462	1169	82,1

Mit der Steigerung der Temperatur wächst der Energieverbrauch im Mittel aller Tiere nur um 6 Proz., also um weniger als z. B. bei den Fischen sich ergibt, und um weniger als bei den Fröschen.

Berechnet man für jede Spezies den auf sie treffenden Temperaturkoeffizienten und reduziert alle Werte auf 16° Lufttemperatur, so erhält man pro 1 qm und Tag:

bei <i>Lacerta</i>	25,0 kg/cal
„ <i>Ran. mug.</i>	125,7 „
„ <i>Allig.</i>	47,4 „
„ <i>Uromast.</i>	29,0 „

¹⁾ *Pflügers Archiv* 77, 1899.

Für *Lacerta viridis* finden sich bei *Regnault* und *Reiset*¹⁾ einige Angaben, die mit den Resultaten anderer Autoren nicht in Einklang zu bringen sind. Die Zahlen sind folgende:

Temperatur des Respirationsraumes	Gewicht einer Eidechse	g Sauerstoff pro kg und Stunde	Respirat.-Quot.
7,3	22,8	0,0246	0,733
14,8	21,0	0,0646	0,733
23,4	21,0	0,1916	0,752

Nimmt man für 1 g Sauerstoff 3,4 kg/cal als Wärmewerte an, so ergibt sich:

kg/cal pro Stunde und kg	kg/cal pro Tag und kg	Oberfläche eines Tieres	Pro kg Tier Oberfläche	Auf 1 qm Ober- fläche kg/cal pro Tag
0,084	2,02	101,3	44,43	4,51
0,220	5,28	95,9	45,66	11,56
0,661	15,62	95,9	45,66	34,2

Regnault und *Reiset* bemerken zu dem Versuch bei 7,3°, daß die Tiere vollkommen erstarrt waren, bei 14,8° waren sie „halb wach“. Bei 23,4° waren die Tiere verwendet worden, nachdem sie 1 Monat mit Milch ernährt waren. Es ist nicht ersichtlich, ob die Tiere bei 7,3 und 14,8° die Temperatur des Versuchsraumes hatten. Sie gaben in diesem Intervall aber pro 1° Zunahme 40,8 Proz. Mehrung der Wärmebildung, was nicht normal sein kann, da man sonst nur Zuwächse von 8 bis 10 Proz. findet. Auch das weitere Ansteigen von 14,8 bis 23,4° ist viel zu rasch (pro 1° + 19,5 Proz.). Der Wert für 23,4° ist kaum halb so groß als ihn andere Autoren gefunden haben.

Neue Versuche an Fröschen.

Es ist anzunehmen, daß die zu Versuchen benutzten Frösche verschiedener Autoren verschiedenen Spezies zugehört haben, ohne daß dies immer bemerkt worden ist. *Rana esculenta* ist ein zumeist im Wasser lebendes Tier, das nur ausnahmsweise seinen Standort verläßt, um auf das Land zu gehen, ein kräftiger Schwimmer und Fleischfresser, den Winter im Schlaf zubringend, und auch gegen sehr niedrige Temperaturen völlig indifferent.

Rana temporaria ist nur während der kalten Zeit im Wasser und bleibt sonst in Wiesen und Gärten, scheut die Hitze und verkriecht sich an schattigen Stellen. Im Winter schläft *Rana temporaria* wie die *Esculenta*.

Die Tiere haben stark entwickelte Hautdrüsen, die Haut selbst ist sehr gefäßreich. Blutreich sind beide Tiere nicht, da man für gewöhnlich für 1 cem Blut nur 250000 rote Blutkörperchen angibt.

¹⁾ Handb. d. Physiol. von Hermann 4a, 136.

Die Resultate *Potts* über kleine Kröten und Frösche stimmen, im Energieverbrauch auf gleiche Oberfläche berechnet, mit den Angaben von *Krehl* für den Riesenfrosch leidlich überein.

Bei 18,6° (*Pott*) 164,9 kg/cal pro 1 qm (Kohlensäurebestimmung).

Bei 16° (*Krehl*) 125,7 kg/cal pro 1 qm (Kalorimetermessung).

Demgegenüber zeigen die kalorimetrischen Messungen *Hills* an *Rana temporaria*¹⁾ wesentliche Unterschiede. *Hill* bemerkt, daß die in Gefangenschaft ungefüttert gelassenen Frösche in 15 Tagen nur mehr halb so viel Wärme bilden wie zu Anfang der Versuche (l. c., S. 389), worauf sie dann auf derselben Höhe der Wärmebildung sich halten. Ich wähle daher aus *Hills* Beobachtungen jene an frischem Material ausgeführte zu Vergleichen aus. Es geben Frösche von 18° pro 1 g und Stunde 0,555 g/cal pro Kilogramm, also 0,555 kg/cal = 13,32 kg/cal pro Tag. Da weiter ein Frosch von 16 g nach meinen Bestimmungen 29,33 qcm Oberfläche, 1 kg also 1831 qcm hat, so trifft für die Tiere von *Hill* pro 1 qm pro Tag und 18° 72,8 kg/cal (Sommerfrösche), eine viel kleinere Zahl, als man nach *Pott* für *Temporaria* findet: nämlich für 19 bis 20° 124 kg/cal pro Tag und 1 qm Oberfläche.

Meine eigenen, nachfolgend berichteten Versuche beziehen sich auf *Rana esculenta*, von denen ich immer kräftige Tiere von 46 bis 50 g Gewicht ausgewählt habe. Untersucht wurden meist sechs Stück zusammen in dem kleinen Respirationsapparat, den ich vor kurzem angegeben habe²⁾. Es kann mit ihm die Kohlensäureausscheidung, die Sauerstoffaufnahme und Wasserdampfausscheidung gemessen werden.

Die stark entwickelten Hautdrüsen und viele praktische Beobachtungen weisen auf die Wasserverdunstung als einen wichtigen Faktor im Leben dieser Tiere hin.

Da die Tiere Carnivoren sind, so ist zu erwarten, daß Eiweiß und Fett die Quellen der Wärmebildung sind, bei hungernden Tieren ebenso, vermutlich unter stark überwiegender Eiweißzersetzung, da sie ungemein fettarm sind. Die Verhältnisse liegen also wie bei den mageren Fischen. Nach *Regnault* und *Reiset* berechnet sich im Mittel als Respirationsquotienten 0,760, der berechnete Quotient für Fett ist bekanntlich 0,707, der Quotient für Eiweiß läßt sich nicht exakt angeben. Bei *Magnus Levy* findet sich 0,809 angeführt³⁾. Nach meinen eigenen Berechnungen nehme ich ihn für verbrennendes Muskelfleisch oder Organe zu 0,762 an. Wie man auch rechnen will, jedenfalls deutet der Quotient auf eine sehr hohe Eiweißverbrennung bei den von *Regnault* und *Reiset* verwendeten Tieren. Betreffs der Wasserverdunstung bei Fröschen liegen bereits einige wichtige Beobachtungen

¹⁾ Journ. of physiol. 43, 379, 1911. — ²⁾ Ber. d. preuß. Akad. d. Wissensch. 1924, S. 2. — ³⁾ Physiol. d. Stoffwechsels, S. 205.

vor. Die Schwankungen des Gewichtes bei Fröschen, die entweder in trockener Luft oder in Wasser abwechselnd gehalten wurden, sind bekannt¹⁾. In Luft austrocknend, gewinnen sie im Wasser wieder ihren früheren Gehalt an Feuchtigkeit. Auch in 0,6- bis 0,7proz. NaCl-Lösung nehmen sie nach Trockenaufenthalt noch an Gewicht zu, aber bei 0,8 bis 1 Proz. ist diese Zunahme gering, sie gehen trotzdem bald zugrunde. Zusammenfassende Angaben über die großen Unterschiede in der Wasserdampfausscheidung nebst einigen zahlenmäßigen Annäherungswerten finden sich bei *Krehl* und *Soetbeer* (l. c., S. 625). Sie führen an, daß sie bei *Uromastix*, einem Wüstentier, überhaupt keine Wasserverdunstung gefunden hätten, auch nicht bei *Lacerta*. Offenbar handelt es sich dabei nur um die Ausscheidung von wenig Wasserdampf aus den Lungen, die der Messung unzugänglich waren, bei der in Brasilien vorkommenden *Testudo tabelaria* ist die Wasserabgabe gering, bei *Rana mug.*, dem Kaiman, Alligator, Krokodil, der Riesenschlange ist der Wasserverlust groß. Wieviel auf Haut und Lungen trifft, läßt sich nicht sagen, *Krehl* meint, daß sie 200 bis 300 Proz. soviel Wärme durch Verdunstung abgeben, als sie Wärme erzeugen (l. c., S. 629). Von *Uromastix* erwähnt *Langlois*, daß sich das Tier schnell in der Sonne erwärmt und in einer halben Stunde von 17 bis 38° an Leibestemperatur zunimmt.

Bei 39° beginnt dann die Atemfrequenz von 70 bis 80 pro Minute auf 180 bis 360 pro Minute zu steigen. Jedenfalls beginnt dann eine starke Verdunstung, die regulatorischen Charakter hat²⁾.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, wie schon gesagt, daß zum Verständnis des Energiewechsels die Bestimmung der Verdunstung absolut notwendig ist, wenn man nicht vorzieht, in Wasserdampf gesättigter Luft zu experimentieren.

Bei Fröschen hat man schon lange gewußt, daß ihre Leibestemperatur und Umgebungstemperatur sehr verschieden sein kann. *Crawford* hat wohl als erster im Jahre 1789 Messungen angestellt. Bei 38 bis 39° Luftwärme hatten seine Frösche nur 20 bis 21° Körpertemperatur. Diese Angaben sind in neuerer Zeit wieder bestätigt worden. Auch in dieser Hinsicht ist die Kenntnis des Wasserstoffwechsels wichtig. Falls sich die Wasserverdunstung als ein wesentlicher Vorgang herausstellen sollte, muß man bedenken, daß die Respirationsarbeit im Energiewechsel von Bedeutung sein kann, wie dies ja auch bei der Polypnoe der Warmblüter der Fall ist.

¹⁾ *Donaldsen*, Journ. comp. Neurol. 8, 314, 1898; *Pflügers Arch.* 85. 401, 1900; 86, 42; 92, 293, 1902; *C. C. Guthrie* und *F. V. Guthrie*, Proc. of the soc. for exper. Biol. and Med. 1914, S. 144.

²⁾ *Winterstein*, l. c., S. 52.

Die Ergebnisse meiner Versuche waren sehr überraschender Art, was sich gleich zeigen wird. Bei den Fröschen wurden gleichzeitig meist sechs Stück in den Versuchsraum gebracht. Nach dem Versuche wurden die Tiere getötet und analysiert. In 100 Teilen Frosch waren 23,3 Teile Trockensubstanz, 76,7 Teile Wasser. In der Trockensubstanz waren in 100 Teilen 12,46 Teile N, 2,62 Teile Fett, 7,63 Teile Asche. Die Tiere sind also außerordentlich fettarm. 100 Teile Frosch von normalem Wassergehalt enthalten 2,95 g N, was etwa dem auch sonst bei den Wirbeltieren feststehenden Werten fettarmer Tiere entspricht. Die ausgewählten großen Sommerfrösche wogen im Durchschnitt pro Tier 46 g frisch. Die Tiere wurden stets die Nacht vor dem Versuche unter die entsprechenden Temperaturverhältnisse gebracht. Bei 0 bis 30°, wie bei 30° nahmen sie eine mehr liegende Stellung ein, bei 20° saßen sie dauernd aufrecht. Das mittlere Ergebnis vieler Versuche war pro Kilogramm für den Tag:

Temperatur der Glocke	Sauerstoffaufnahme g	Kohlensäureabgabe g	Wasserdampfabgabe g
30°	—	2,19	13,92
20	4,34	5,21	20,08
30	—	5,65	28,00

Bei 20° war der Respirationsquotient 0,850. Bei diesen Verhältnissen hat 1 g Sauerstoff einen Kalorienwert von 3,4 pro 1 g, demnach war die Wärmebildung bei 20° $4,34 \cdot 3,45 = 14,91$ Cal pro Kilogramm gewesen. Für 1 g CO₂ kann man nach diesem Sauerstoffwert (5,21 g CO₂ = 14,97 kg/cal) den Wert 2,864 für die anderen Versuche zugrunde legen. Dann hat man:

Temperatur	kg/cal pro kg und Tag
30°	6,27
20	14,92
30	15,89

Bei dem Temperaturintervall 3 bis 20° nimmt die Wärmeproduktion um 8,1 Proz. pro 1° zu; das bleibt nicht nennenswert hinter den bei den Fischen von mir angegebenen Werten zurück.

Während manche Beobachter angeben, Frösche bis zu 35° ohne Nachteil erwärmt zu haben, verhielten sich meine Tiere anders. Über die Grenze von 20° hinaus nahm die Wärmebildung um wenig zu. Sie hatten dabei, wie später auseinandergesetzt werden wird, nur eine Leibestemperatur von etwa 25°, doch waren sie über das Optimum der günstigsten Temperatur schon hinaus. Die Wasserverdunstung stieg bei 30° erheblicher an, als die gesamte Wärmebildung zugenommen hatte. Mag auch ein Teil des verdunsteten Wassers von eingedicktem

Harn herrühren, die Hauptsache entstammt jedenfalls der Lungen- und Hautatmung.

Wenn man die Zahlen der Wasserverdunstung auf Wärmewerte umrechnet, so sieht man, daß die Verdunstungskälte mehrfach größer war als die Wärmeproduktion überhaupt.

Wärmewerte in Kilogrammkalorien.

Temperatur	Produktion pro kg und Tag	Verdunstung
3 ^o	6,27	8,35
20	14,92	12,05
30	15,89	16,80

Daraus folgt, daß sich der Frosch bei 3 bis 30^o durch die Verdunstung abgekühlt haben muß. Bei 3^o um 2,18 Cal pro Tag und bei 30^o um 0,91 kg/cal. Nimmt man die spezifische Wärme des Frosches zu 0,83, so hat 1 kg den Wasserwert von 0,83 kg. Bei 3^o hat er sich also um $\frac{2,18}{0,83} = 2$ bis 6^o abgekühlt, also fast 0^o erreicht.

Im Raume von 30^o kann er diese Temperatur nicht beibehalten haben. War er bei 21^o im Gleichgewicht, so hat er bei 30^o 4,80 Cal mehr abgegeben als bei 20^o; er konnte sich also, weil er ja auch etwas mehr Wärme produziert $\left(0,97 \text{ kg/cal } 4,80 - 0,97 = \frac{3,83}{0,83}\right)$, um 4,6^o niedriger einstellen, d. h. auf 25,4^o, ein Wert, der sehr wahrscheinlich ist. Nun wird es so gewesen sein, daß er in den Anfangsstunden des Versuches wahrscheinlich unter diesem Werte und gegen Ende des Versuches mehr der höheren Temperatur sich näherte.

Aber auch nach dieser Korrektur zeigt sich doch schon eine Störung der Wärmeproduktion, wie sich ja auch das Aussehen der Frösche ersichtlich geändert hatte, sie waren, wie erwähnt, schlapp geworden saßen nicht mehr aufrecht wie bei 20^o.

Diese Einrichtung der Wasserverdunstung betrachte ich als eine Regulationseinrichtung und eine Schutzeinrichtung, die das Ziel hat, die Temperatur der Zellmasse auf einer bestimmten Temperatur, die den Funktionen des Tieres angemessen ist, zu halten. Möglicherweise wird erstrebt, die Temperatursprünge des Protoplasmas einzuschränken oder doch zu verlangsamen, vorausgesetzt, daß eben die äußeren Bedingungen eine geeignete Größe der Verdunstung erlauben.

Es ist naheliegend zu vermuten, daß die Auslösung dieser Einrichtung durch die Körperwärme bedingt wird.

Von Unruhe und Bewegungen war bei den verschiedenen Temperaturen bei den Fröschen nicht viel wahrzunehmen. Zum Springen

und Hüpfen bot auch der Versuchsraum keine Gelegenheit. Im freien Leben wird man zweifellos große Unterschiede sehen. Bei 3° waren sie allerdings, wie erwähnt, völlig stumpfsinnig und legten sich wie im Schläfe zu Boden. Es ist anzunehmen, daß eine Art von Dämmerzustand gegeben war, in dem sie ja auch die niedrige Temperatur des Winters in der Natur hinbringen.

Ein spezifischer Abfall des Energieverbrauchs lag in diesem Zustande nicht vor, da in den Schwankungen zwischen 3 bis 20° die Zunahme des Energieverbrauchs sich in den Grenzen hielt, die man auch sonst bei Kaltblütern (z. B. bei den Fischen) findet. Das Ausfallen der Nierentätigkeit und Gehirntätigkeit äußert sich im Stoffwechsel solch einfach angelegter Tiere überhaupt nicht. Um etwa derartiges nachzuweisen, bedürfte es umfangreicher Experimente. Für die weiteren Vergleiche muß noch die Umrechnung auf gleiche Oberflächen vorgenommen werden. Das Mittelgewicht der verwendeten gleich großen Frösche war 46 g. Die Oberflächenkonstante wurde zu 4,62 bestimmt. 46 g Lebendgewicht entsprechen dann 59 qcm Oberfläche = 1280 qcm pro Kilogramm.

Pro 1 qm und Tag:

Temperatur	Wärmebildung kg/cal	Wasser verdunstet g
Bei 3° . .	49,0	108,6
" 20 . .	116,6	156,9
" 30 . .	124,1	218,9

Rechnet man 1 g Wasserverdunstung zu 0,6 kg/cal, so verhalten sich Wärmebildung durch Verbrennung und Wärmeverlust durch Wasserverdunstung wie folgt:

Pro 1 qm und Tag:

Temperatur	Wärmebildung kg/cal	Verdunstung kg/cal
Bei 3° . .	49,0	65,2
" 20 . .	116,6	94,1
" 30 . .	124,1	131,4

An Messungen am Frosche liegen hinsichtlich der Wärmebildung vor die Versuche von *Pott* an Tieren von 1,3 bis 13,9 g, jene von *Krehl* und *Soetbeer* am Ochsenfrosch von 600 g und meine Bestimmungen an Tieren von 49 g und jene von *Hill*.

Meine Tiere hungerten, von den anderen Beobachtungen ist der Ernährungszustand nicht bekannt. Untersucht wurde nach drei verschiedenen Methoden (Kohlensäurebestimmung, Sauerstoffzehrung, kalorimetrische Messung).

Autor	Temperatur	Pro qm Oberfläche kg/cal	Temperatur	Pro qm Oberfläche kg/cal
Pott (Ran. temp.) . .	20°	15	16°	138
Hill	18	73	16	68
Rubner" (Ran. escul.)	20	88	16	66
Krehl und Matthes (Ran. mugiens) . .	16	117	16	117

Die Temperaturkorrektur habe ich aus meinem Versuche abgeleitet. In absteigender Reihe fällt pro 1° die Wärmebildung um 3,2 Proz. (aufsteigend nimmt sie um 8,1 Proz. zu).

Die Differenzen in vorstehender Tabelle sind recht erheblich, doch mag Fütterung oder Hunger und ungleicher Bewegungszustand im einzelnen mitgewirkt haben. Der letztere Faktor ist jedenfalls beim Frosch nicht sehr wesentlich. Eher noch kann die ungleiche Verdunstung von Bedeutung sein und die kleinen Werte erklären. Das Gesamtmittel beträgt pro 1 qm und Tag 97,6 kg/cal. Unverständlich sind Angaben von Vernon, aus dessen Zahlen ich pro 30° und 1 kg und Tag für *Rana esculenta* 12,6 kg/cal und für *Temporaria* 38,0 kg/cal berechne, bei 16° für *Esculenta* 6,4 kg/cal und für *Temporaria* 7,0 kg/cal. Zahlen, die kaum dem halben Werte der obigen Angaben entsprechen.

Versuche an Schildkröten.

Zum Gegensatz zu den viel Wasser verdunstenden Fröschen gedachte ich, analoge Versuche an Schildkröten anzustellen, in der Voraussetzung, damit ein Objekt zu haben, das bei der trockenen lederartigen Haut jedenfalls eine äußerst geringe Verdunstung aufweisen würde. Das Ergebnis dieser Versuche war aber ein ganz anderes und unerwartetes. Die beiden von mir verwendeten Tiere zeigten die bei den Fröschen schon bedeutende Verdunstung in noch höherem Grade wie diese; so daß der Zwang vorlag, alle möglichen Kontrollversuche und Wiederholungen anzustellen, ohne daß das Ergebnis ein anderes geworden wäre. Ich habe in den Apparat Schälchen mit gewogenen Mengen von Wasser gebracht und fast völlig übereinstimmende Zahlen im Kontrollversuch erhalten, dann Versuche mit kleinen Meer-schweinchen dazwischen eingeschoben und gleichfalls normale Befunde für die Wasserabgabe erhalten. Meine Ergebnisse an Schildkröten stimmen mit Tieren überein, von denen Krehl und Soetbeer sagen, man erhalte zwei- und dreimal soviel Kalorien im Wasserdampf, als die Wärmeproduktion überhaupt betrage. Nur rechnen Krehl und Soetbeer die Schildkröten zu jenen Amphibien, die kaum Wasserdampf abgeben. Eine Klärung fand das Ergebnis erst durch einen befreundeten Zoologen, der mich darauf aufmerksam machte, daß manche Spezies der Schildkröten Wasserbehälter besitzen, aus denen dann offenbar die stärkere Verdunstung bestritten werden kann.

Ich lasse zunächst die Ergebnisse folgen. Ein näher untersuchtes Tier hatte nach der Tötung 135 g Gewicht ohne Schale und lieferte 33 g Trockensubstanz = 24,4 Proz. und Wasser = 75,6 Proz. In der Trockensubstanz waren 11,13 Proz. N, 8,49 Proz. Ätherextrakt und 18,0 Proz. Asche. Im Gegensatz zum Frosch war also die Schildkröte verhältnismäßig reich an Fett. Das Tier wurde bei steigender Temperatur gleichfalls in absolut trockener Luft beobachtet, wobei sich im Mittel folgendes zahlenmäßiges Ergebnis zeigte.

Pro Tag:

Temperatur	CO ₂ Liter	O Liter	H ₂ O ¹⁾ g	Respirations- quotient	Tiergewicht g
20°	0,200	0,250	4,380	0,800	163
30	0,537	0,597	9,400	0,908	156
37	0,704	0,726	18,100	0,969	149

Gewicht der Tiere ohne Schale 135 g.

Temperatur	Auf 1 kg und Tag					Auf 1 qm kg/cal	Wasserdampf	
	Sauer- stoff Liter ²⁾	kg/cal	Wasser- dampf g	Wärmewert des Wasser- dampfes	Auf 1 kg Ober- fläche		g	Cal
20 ^o	1,853	8,52	32,44	19,5	891	95,6	364,1	218,5
30	4,422	21,33	69,63	41,8	891	158,6	500,9	300,5
37	5,377	26,31	133,33	80,0	891	194,9	987,6	592,6

Über die Art der Stoffzersetzung etwas Allgemeines zu sagen, ist nicht möglich, der respiratorische Quotient läßt aber erkennen, daß er bei den höheren Temperaturen größer wird, was auf eine vermehrte Kohlehydratverbrennung hinweist, wobei zunächst ein vermehrter Verbrauch von aufgespeichertem Glykogen dienen könnte. Da die hohe Temperatur von 37° an und für sich zum mindesten eine Störung des Wohlbefindens meiner Schildkröten bedeutet, so würde also auch die Zunahme des Quotienten eher etwas Abnormes als Normales sein.

Die Versuche mit 37° waren jedenfalls über der optimalen Grenze gelegen, denn das Versuchstier starb, nachdem es mehrmals zu diesen Experimenten benutzt worden war. Man sieht auch, daß die Steigerung des Energieverbrauchs von 20 bis 30° größer war als jene von 30 bis 37°, von 20 bis 30° pro 1° eine Steigerung von 18,0 Proz., von 30 bis 37° pro 1° nur 3,3°. Das Tier folgt also entweder der Außentemperatur überhaupt nicht, oder es war bereits eine Schädigung des Energieverbrauchs vorhanden, oder endlich beide Prozesse wirkten gleichzeitig ein.

¹⁾ Die Gewichtsverluste, auf Gramm genau gewogen, waren: bei 20° 4 g, bei 30° 10,5 g, bei 37° 15 g.

²⁾ 1 Liter O = 4,60 kg/cal; 1 Liter O = 4,823 kg/cal; 1 Liter O = 4,894 kg/cal.

Die Wasserverdunstung stieg zwischen 20 bis 30° pro 1° um 11,5 Proz., zwischen 30 bis 37° für 1° um 13,1 Proz.

Da man annehmen muß, daß die Wasserabgabe nicht oder nur zum kleinsten Teil durch die Haut, vielmehr durch die Atmung unterhalten wird, so scheint diese ziemlich selbständig der Höhe der Lufttemperatur sich anzupassen.

Die Wasserverdunstung ist ungeheuer groß und kaum faßbar, wie sie auf den Körper wirkt.

Nehmen wir die Gesamtmenge der Wärme im Körper (= Wasserwert $\times$ Temperatur) und fügen hinzu die Wärmeproduktion, so erhalten wir:

		Wasserverdunstungswert
bei 20°	(0,030.20 =) 16,6 + 8,52 = 25,1 Cal	19,5 kg/cal
„ 30°	(0,830.30 =) 24,9 + 21,3 = 46,2 Cal	41,8 kg/cal
„ 37°	(0,83 .37 =) 30,7 + 26,3 = 57,0 Cal	80,1 kg/cal

d. h. die durch Verdunstung gebundene Wärme ist so groß, daß sie den ganzen Körper bei 20 und 30° fast auf den Nullpunkt abkühlen könnte, bei 37° bliebe sogar noch ein Überschuß zu weiterer tieferer Abkühlung.

Die Wärme für die Wasserverdunstung kann also unmöglich ganz dem Körper entnommen sein, auch kann man die Wärmebildung nicht ausschließlich auf „Atmungsarbeit“ zurückführen. Somit bleibt nur die Möglichkeit, daß ein Teil des Wassers von den austrocknenden flüssigen Ausscheidungen herrührt, was man zweifellos bejahen kann. Diese Menge wird mit dem Gesamtenergieumsatz im Zusammenhang stehen. Endlich kann die Wärme zur Verdunstung bei lebhafter Atmung zum Teil der geatmeten Luft entnommen werden, wenn diese rasch wieder ausgetrieben wird. Was also dann wirklich dem Körper selbst entzogen wird, läßt sich nicht feststellen, weil leider die Temperatur des Tieres nicht gemessen wurde.

Bei der Anstellung der Versuche war mir entgangen, daß die Literatur außer den negierenden Angaben hinsichtlich der Wasserverdunstung der Schildkröten von *Krehl* und *Soetbeer* auch zwei positive Angaben enthält; die freilich etwas unvollständig sind und für sich genommen kein richtiges Bild der Verhältnisse geben. So sagt z. B. *Langlois*, daß Schildkröten pro Kilogramm und Stunde 2,8 bis 5,0 g Wasserdampf abgeben, und *Varanus* gibt noch höhere Zahlen, 8,9 bis 12,0 g pro Kilogramm und Stunde. Pro Kilogramm und Tag wären das nach *Langlois* 67 bis 120 g = 40,2 bis 72,0 kg/cal, nach *Varanus* 214 bis 288 g = 128,4 bis 172,8 kg/cal.

Angaben über Spezies, Gewicht und Temperatur der Tiere fehlen. Die Werte überschreiten gewaltig das, was ich selbst beobachtet habe, wenn man die Zahlen von *Varanus* in Betracht zieht, während jene

von *Langlois* mit den meinigen sich gut vereinen lassen. Die Anfänge einer Wärmeregulation, wie wir in der Kiemenwasserbewegung schon bei den Fischen sehen, ist also bei den Amphibien und Reptilien ganz ausgeprägt. Die physikalische Regulation stellt die erste in der Entwicklungsreihe vorkommende thermische Regulation dar, die roh und ungeschlachtet und unter enormer Polypnoe bei den Schildkröten in die Erscheinung tritt. Sie erleichtert den Aufenthalt der Tiere auf dem Lande und befähigt sie zur Wanderung auch unter ungünstigen thermischen Verhältnissen, verhütet das sprungweise Erhöhen des Protoplasmas und des Energieverbrauchs. Jedenfalls ist die physikalische Regulation ein wichtiger Fortschritt in der Entwicklung, die wir dann beim Warmblüter fein ausgearbeitet wiederfinden. Die Schildkröte eignet sich anscheinend wenig, um eine exakte Angabe darüber zu machen, ob die Oberflächenentwicklung irgend etwas mit der Größe des Energieverbrauchs zu tun hat. Es bedarf aber wohl keines Hinweises, daß es nicht darauf ankommt, ob die Oberfläche frei oder an der Schale teilweise haftet. Wenn eine Gesetzmäßigkeit vorliegt, die sich rechnerisch nach der Oberflächenentwicklung ausdrücken läßt, so muß sie auch bei Abweichungen der Körperstruktur sich äußern, dies um so mehr, als ich, wie gezeigt, die Eigenart dieser zahlenmäßigen Änderung des Energieverbrauchs auf die Wachstumsverhältnisse selbst zurückgeführt habe.

Nehme ich für den Körper der Schildkröte die Konstante der Oberflächenentwicklung beim Frosch, so kommt man auf die in vorstehender Tabelle gegebenen Näherungszahlen. Die Größe der Wärmebildung pro 1 qm und Tag wäre bei $20^{\circ} = 96 \text{ kg/cal}$, und wenn man pro 1° Temperaturvariation die bei Fröschen gefundenen Werte von 8 Proz. einführen will, so hätte man rund 84 kg/cal , pro 16° und Tag einen Wert, der niedrig ist, unter den Werten der Frösche steht und sich etwa den Eidechsen usw. nähert.

Aus den Darlegungen geht hervor, daß bei Amphibien teilweise Einrichtungen bestehen, welche starke Steigerungen der Leibestemperatur hemmen.

In anderen Fällen, wie bei der Besonnung der Tiere, kann eine geringe Verdunstung gerade den Zweck, den Energieumsatz zu steigern, erreichen helfen. Tiere dieser Art müssen offenbar die Fähigkeit besitzen, die Erwärmung des Protoplasmas zu ertragen und den Blutstrom zu vermehrter Umsetzung entsprechend zu unterhalten.

Somit liegen also in dieser Gruppe der Amphibien und Reptilien die biologischen Verhältnisse nicht gleich. Vielmehr treten eben wichtige Anpassungen an die verschiedenen Lebensbedingungen in die Erscheinung. Ein Vergleich zwischen Energieverbrauch von Fröschen, Amphibien und Reptilien zeigt für 16° folgendes:

Fische	kg/cal pro qm und Tag	Amphibien und Reptilien		kg/cal pro qm und Tag
0,5 g	38,8	Frösche u. Kröten .	0,8–49,0 g	128,0
2,25 "	44,3	Lacerta	110 g	45,0
3,8 "	26,0	Alligator	1380 "	47,4
193,0 "	30,4	Uromastix	1250 "	29,0
245,0 "	32,5	Frösche	1,3–600 g	97,5
		Schildkröte	135 g	64,0
	33,08 kg/cal ¹⁾			69,5 kg/cal

Ein Bedenken gegen den Vergleich der Resultate bei gleicher Temperatur könnte vielleicht darin gefunden werden, daß man annimmt, verschiedene Spezies hätten verschiedene Temperaturgrade, bei denen sie die günstigsten Verhältnisse des Energieumsatzes zeigen, d. h. die Kardinalpunkte Minimum, Optimum, Maximum hätten eine verschiedene Lage für verschiedene Spezies.

Bei Bakterien kommen solche Verschiedenheiten tatsächlich vor. Bei den Thermophilen ist die ganze Temperatur mit ihren drei Kardinalpunkten auf eine höhere Temperaturstufe überhaupt gebracht. Ich habe zuerst bewiesen, daß Thermophilen in ihrem Optimum nicht mehr Energieverbrauch zeigen wie andere Spezies bei mittlerer Temperatur.

Andererseits ist es aber für den Kaltblüter ganz gewiß falsch, etwa anzunehmen, daß sie etwa nur dort leben, wo sie ihren optimalen Stoffwechsel entfalten können. Die Lachse in den Eismeeeren leben ganz gewiß dort nicht, weil Temperaturen von -2 bis $+3$ ihre optimalen Leistungen erlauben, sondern weil sie dort Futter und Lebensunterhalt finden, sie sind aber ebenso befähigt, an anderen Teilen des Ozeans sich bei anderer höherer Temperatur aufzuhalten.

Maurel und Logriffe gaben als maximale Temperatur für Fische 30 bis 32° an, was kaum allgemein zutreffend sein dürfte. Bei den Fröschen habe ich beobachtet, daß sie bei 30° längere Zeit schlapp wurden und viele starben, eine andere Spezies, z. B. Mugiens, erträgt aber 37°²⁾. Bei diesen Ungleichheiten scheint mir nichts weiter vorzuliegen als eine Latenz der optimalen Leistungsfähigkeit des Protoplasmas durch Nichtgebrauch, wie sie bei dauerndem Aufenthalt in niedriger Temperatur leicht entstehen kann.

An dem Vergleich auf ein und dieselbe Temperaturhöhe wird man wohl vorläufig festhalten können, zumal die daraus sich ergebenden Unsicherheiten neben anderen Mängeln der heutigen Versuche nicht sehr erheblich sein können.

Vergleicht man den Energieverbrauch bei den in den Tabellen angeführten Amphibien und Reptilien pro 1 qm mit den Mittelwerten

¹⁾ Mittel aller Einzelbeobachtungen.

²⁾ Winterstein, 3, II, S. 91.

der Frösche, so haben wir Tiere, deren Energiewert den Fröschen nahesteht (Uromastix), andere dann, wo er sich deutlich über den Frosch hebt. Jener der Frösche und Kröten weicht aber schon erheblich nach oben vom Mittelwert ab.

Zwischen den Fischen und wohl den meisten Amphibien besteht aber noch, bereits angedeutet, ein wichtiger biologischer Unterschied. Die Fische ertragen Erniedrigung ihrer Leibestemperatur bis unter den Nullpunkt, ohne an Bewegungsfähigkeit einzubüßen. Wenigstens erscheint das als Regel.

Von Karpfen und Aalen, die bei niederer Temperatur in eine Art Winterschlaf fallen, mag abgesehen sein.

Bei den Amphibien sehen wir häufig schon bei Temperaturen von 5 bis 7° Dämmerzustände und Unfähigkeit zu Bewegungen so weitgehend, daß geradezu eine völlig wehrlose Lage der Tiere zustande kommen kann.

Wichtige Organe wie Hirn und Nerven reagieren also bei verschiedenen Tieren auf niedere Temperaturen in verschiedener Weise. Möglicherweise liegen auch Herabsetzungen in der Arbeitsfähigkeit der Muskeln vor, da solche gekühlten Tiere, auch wenn sie gereizt werden, keine oder nur unkräftige Zusammenziehungen der Muskeln zeigen.

B. Das Oberflächengesetz.

Die vorliegenden Untersuchungen haben das Bedürfnis gezeitigt, große und kleine Tiere hinsichtlich ihres Energieverbrauchs zu vergleichen. Auf die Masse bezogen, findet man die allergrößten Unterschiede. Ich habe dann gezeigt, daß nach der Umrechnung auf gleiche Oberfläche zum Teil nicht nur bei jungen und älteren Tieren derselben Spezies die vorher bestehende Unstimmigkeit beseitigt wird, daß ferner bei Fischen z. B. die Speziesunterschiede außerordentlich klein werden, während bei Amphibien und Reptilien eine solche Speziesübereinstimmung allerdings nicht zu finden ist. Bei richtigem biologischen Denken hätte man a priori auch andere zahlenmäßige Beziehungen zwischen Körper und Energieverbrauch vermuten können, denn die Übertragung des Oberflächengesetzes auf den Kaltblüter wäre sinngemäß nicht zulässig, dieses setzt, was ich schon bei meinen ersten Veröffentlichungen vor nunmehr 41 Jahren auseinandergesetzt habe, eine Wärmeregulation voraus, und zwar die chemische, welche so viel Material zur Verbrennung zu bringen hat, bis die richtige Körpertemperatur gesichert ist. All das trifft ja beim Kaltblüter nicht zu. — Wenn wir aber tatsächlich doch gewisse Zusammenhänge des Energieverbrauchs beim Kaltblüter nach Umrechnung auf gleiche Oberflächen jetzt nachweisen können, so besagt das keineswegs, und ich habe darauf in den vorstehenden Abhandlungen immer wieder hingewiesen,

daß die Oberfläche das Entscheidende für die Abstufung des Energieverbrauchs sei, und weiter werden wir ja auch dieselbe Übereinstimmung finden, wenn wir in der Formel $\text{Oberfläche} = K \cdot \sqrt[3]{\text{Gewicht}}$, für K Werte einsetzen wollten, die von der wirklichen Oberflächenkonstante nach willkürlicher Wahl wesentlich verschieden sind.

Wäre man zuerst auf die Untersuchung des Stoffwechsels des Kaltblüters gestoßen, ohne Kenntnisse der für den Warmblüter geltenden gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Oberfläche und Energieverbrauch, so hätte man sicher nicht nach einer Oberflächenformel zur Lösung des Problems der Aufklärung von Körpermasse und Energieverbrauch gesucht.

Ich habe mich schon vor Jahren gegen diese Schematisierung des Energieverbrauchs nach Maßgabe der Oberflächen deutlicher ausgesprochen, da man allerdings nur rechnerisch von dem ungeheuren Energieverbrauch der Mikroben sprach, deren relative Oberfläche ungeheuerliche Dimensionen aufweist. Und die Tatsachen reden eine andere Sprache; ich habe zuerst den Betriebsstoffwechsel bei pathogenen Bakterien, Saprophyten, Thermophilen und Hefezellen zahlenmäßig festgestellt und bewiesen, daß eine Übertragung der Wärmebildung pro 1 qm Oberfläche, wie wir sie etwa bei Warmblütern oder sonst sehen, sich nicht im allerentferntesten auf die Wärmebildung bei Mikroben übertragen läßt¹⁾.

Nachdem es aber jetzt notwendig wird, die Bedeutung der Oberfläche für den Energieverbrauch schärfer zu präzisieren, muß ich die Gelegenheit wahrnehmen, einmal noch zu der Anwendung des Oberflächengesetzes für den Warmblüter und den Menschen Stellung zu nehmen. Das Oberflächengesetz hat uns in der Betrachtung des Energieverbrauchs die allergrößten Dienste geleistet, und ohne dasselbe wären auch alle Probleme des Wachstums überhaupt unlöslich geblieben. Das wird wohl allgemein anerkannt, trotz der nörgelnden Kritik, die einige Fachgenossen und Nichtfachgenossen glaubten ausüben zu müssen. Es scheint mir noch wichtig, völlige Klarheit im Hinblick auf die allgemeinen Beziehungen des Oberflächengesetzes für die Entwicklungsfragen überhaupt zu schaffen. Die beiden extremsten Äußerungen meiner Gegner lassen sich dahin zusammenfassen, daß die einen das Oberflächengesetz als etwas Selbstverständliches ansehen und wahllos überall bei den Mikroben anwenden wollen, während die anderen das Oberflächengesetz als *keine thermische* Einrichtung ansehen, sondern aus anderen Zusammenhängen erklären, und endlich die kleine Gruppe derer, die das Körpergewicht als einen ebenso guten

¹⁾ Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle, S. 266.

Maßstab für den individuellen Energieverbrauch ansehen wie das Gewicht. Außer in der physiologischen Literatur enthält auch die pädiatrische einige hierher gehörige Auslassungen und mißbräuchliche Kritik.

Was mir stets aufgefallen ist, betrifft die eigenartige Stellung, die man den hypothetisierenden Bemerkungen *Bergmanns* und *Leukarts* beigemessen hat. Sie nehmen an, daß kleine Tiere mehr Wärme bilden müßten, weil sie sich mehr abkühlten. Das ist, wie man sieht, nichts weiter als die Anwendung des bekannten Satzes, daß Objekte gleicher Form um so schneller erkalten, je kleiner sie sind, weil die relative Oberfläche zunimmt. 1 cbm hat 6 qm Oberfläche und 1 cdm 600 qm, der kleinere pro Gewichtseinheit also zehnmal mehr. Die Publikation *Bergmanns* stammt aus einer Zeit, wo man von den Ernährungsverhältnissen kaum noch richtige Vorstellungen hatte, es war damals ebenso berechtigt anzunehmen, daß kleine Tiere an sich schon einen spezifischen Stoffwechsel hätten, auch war sicher, daß eben kleine Tiere meist junge Tiere sind, und der Jugend maß man gleichfalls einen hohen Stoffwechsel zu, weil zum Wachstum ein großer Stoffwechsel gehöre. Die kleinen Tiere sollten auch einen spezifischen hohen Eiweißstoffwechsel haben. Über die Einrichtungen einer Wärmeregulation bestand noch völlige Unsicherheit, manche legten dem Umstande, daß Tiere in der Behaarung, im Fettansatz, große Unterschiede besaßen, eine ganz besondere Bedeutung bei. So ist *Bergmanns* und *Leukarts* Hypothese sogar, trotzdem daß das Experiment *Chossats* das rasche Verhungern kleiner Tiere nachwies und *Regnaults* und *Reisets* Versuche viele Angaben über den Sauerstoffverbrauch auch kleiner Tiere aufführten, sozusagen völlig der Vergessenheit anheimgefallen. Erst meine Untersuchungen über den Gesamtkraftwechsel haben den Anstoß gegeben, große und kleine Tiere miteinander zu vergleichen.

Das Oberflächengesetz hat sich übrigens nur unter ganz bestimmten Voraussetzungen für den Warmblüter bestimmt beweisen lassen, und zwar unter folgenden Umständen:

1. war der Gesamtenergieverbrauch in mindestens 24stündigen Versuchen festzustellen;
2. die Tiere waren stets im Hungerzustande zu untersuchen;
3. bei Temperatur von etwa 15°;
4. mußte der Ernährungszustand ein guter sein;
5. war die Oberfläche der Tiere zu messen.

Das Oberflächengesetz in der Form, wie es von mir bewiesen wurde, hatte eine ganze Reihe anderer Untersuchungen und Feststellungen zur Voraussetzung:

1. die Auffindung des Isodynamiegesetzes und die Festsetzung der kalorimetrischen Basis des Stoffwechsels;
2. die Erkenntnisse der physikalischen Wärmeregulation;

3. den Nachweis der spezifisch-dynamischen Wirkung der Nahrungsstoffe;
4. den Nachweis, daß der jugendliche Stoffwechsel wesentlich eine Oberflächenwirkung sei;
5. die Veränderung des Energieverbrauchs mit der Konstitution (bei Hunger ändert sich der Energieverbrauch nicht mit der Oberfläche, sondern mit der Masse).

Viele der späteren Beobachter haben durchaus nicht immer auf diese Voraussetzungen genügend Rücksicht genommen. Ergänzend dazu habe ich auch den Energiewechsel des Zwerges beobachtet.

Das Oberflächengesetz habe ich als ein *rein thermisches Gesetz* aufgefaßt, dessen Wirksamkeit durch die große Exaktheit der chemischen Wärmeregulation sichergestellt war, wie ich gezeigt habe, reagierten meine Versuchshunde auf die Variation von 1° Lufttemperatur.

Mit gewissen individuellen Schwankungen des Energieverbrauchs muß man bei allen Versuchen an Tieren rechnen. Daher hat es keinen Sinn, nach der Wirksamkeit des Oberflächengesetzes zu suchen, wenn die Körpergewichtsunterschiede gering sind, dann können die individuellen Schwankungen natürlich viel größer sein als die Oberflächenwirkung. Nur für diesen Fall ist es völlig gleichgültig, ob man „Masse“ oder „Oberfläche“ zugrunde legt. *Murlin*, der überhaupt die Bedeutung des Oberflächengesetzes ganz richtig und in meinem Sinne aufgefaßt hat, gibt für dieses berechnigte Zusammenwerfen von Massenberechnung und Oberflächenberechnung eine treffende Kritik¹⁾. Ich verweise außerdem auf die kritische Zusammenstellung *Grajes* in seinem Buche „Die pathologische Physiologie des Gesamtstoffkraftwechsels beim Menschen“, 1923.

Weiter sagt uns eine eingehende Überlegung, daß nicht jeder Quadratzentimeter eines Tieres bei der Wärmeabgabe in Betracht kommt und manche Formveränderungen von Schwanzbildungen oder der Umbildung der großen Ohren bei Kaninchen nebensächliche Annexe darstellen. Daher habe ich mich auch wie folgt ausgesprochen:

„Die Einstellung nach dem Oberflächengesetz ist also für die chemische Regulation gedacht. Bei dieser spielt die Körperoberfläche das ausschlaggebende Moment, sie dient also zur Berechnungsgrundlage, die Abkühlung durch die Lunge, wechselnd vor allem mit der Feuchtigkeit, ist von so untergeordneter Größe, daß sie keiner weiteren Beachtung bedarf. Beim Menschen beträgt sie etwa 1,29 Proz. der Gesamtwärme.“ *Pfaundler* glaubte die Entdeckung gemacht zu haben, daß man doch zur Körperoberfläche auch noch die Lungenoberfläche hinzuzählen müsse, um die gesamte wärmeabgebende Fläche zu erhalten. Wie man

¹⁾ Science 54, 1392.

sieht, hat im Gebiete der chemischen Wärmeregulation die Lunge als thermischer Faktor überhaupt keine Bedeutung; sie gewinnt erst bei der Überwärmung im Gebiete der physikalischen Regulation, und zwar bei der Erregung polythermer Frequenz bei *den* Tieren, welche nicht schwitzen, eine Rolle. Wie groß die Lungenfläche ist, weiß man nicht genau, und wenn wir sie kennen, wäre es ein Unding, die positive und negative Seite ein und derselben Erscheinung zusammenzuzählen. Es ist merkwürdig, daß man den logischen Fehler des *Pfaunders* Vorschlags nicht sofort erkannt hat. Wo diese chemische Regulation zu wirken beginnt, ist auch beim hungernden Tiere ganz wechselnd, je nach dem Fettgehalt und je nach der Art des Pelzes. Ich habe diese Grenze experimentell beliebig durch Abschneiden eines Teiles der Haare oder Rasieren des Tieres verschieben können, auch liegen von mir Bestimmungen über die Arten der Pelze verschiedener Spezies vor. Man begreift, daß, wenn auch noch solche Bedingungen wie das Herabdrücken des Beginns der chemischen Regulation vorkommen, die Regulationsmöglichkeiten bis weit unter 0° bei völliger Gesundheit der Tiere gegeben sind. Dazu kommt noch die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrung¹⁾, besonders die des Eiweißes, wodurch der Beginn der chemischen Regulation weiter erniedrigt werden kann. Man begreift aus diesen Tatsachen, daß selbst Tiere wie die Hunde auf Polarreisen bei erheblichen Kältegraden unter Null im Freien zu kampieren vermögen. Ihre Nahrung bilden meist Magerfische, die der Hauptsache nach aus Eiweiß bestehen.

Über die chemische Wärmeregulation als solche besteht heutzutage kein Zweifel mehr, auch die Zentren für diese Einrichtung lassen sich nachweisen. Eine sehr ausgedehnte Diskussion hat in der Literatur stattgefunden vor allem darüber, ob es die Muskeln sind, welche die Lieferung der Wärme besorgen. Es würde an dieser Stelle zu weit führen, darüber Näheres zu sagen, wohl aber ist erwähnenswert, daß man von der älteren Theorie, ausschließlich die Muskeln mit diesen Funktionen zu betrauen, mehr und mehr abgekommen ist²⁾.

Was den Menschen anlangt, so besitzt er durch den Mangel einer Haarkleidung Eigenschaften, die ihn zum Aufenthalt in Klimaten mit mäßiger Wärme völlig untauglich machen, weshalb der ganz willkürliche Ersatz der Haarkleidung durch die Bekleidung erforderlich ist. Die chemische Wärmeregulation ist bei dem Kulturmenschen jedenfalls nur mäßig entwickelt und durch Gewöhnung vielleicht etwas verkümmert. Sie hat sich aber zweifellos doch erhalten, auch das kann heute als gesicherte Tatsache angesehen werden. Nur spricht

¹⁾ Gesetz des Energieverbrauchs, S. 109.

²⁾ Grafe, Die pathol. Physiol. 1923, S. 51.

die Haut am besten auf Kältereize an, wenn es sich um bewegte Luft handelt, was die Versuche meines Laboratoriums gezeigt haben.

Um diese Verhältnisse besser zu verstehen, muß ich den Versuch anführen, welchen ich in dem Jahre 1886 ausgeführt und in den „Biologischen Gesetzen, Marburg 1887“ veröffentlicht habe. Ich legte mir damals die Frage vor, was denn vom Energieverbrauch eines Tieres übrigbliebe, wenn man durch Steigerung der Temperatur der Luft die chemische Regulation ganz ausschaltete. Ich habe dazu große und kleine Meerschweinchen, also junge und ausgewachsene Tiere, benutzt.

Nach Ausschaltung der chemischen Regulation befindet sich ein Tier auf dem *Energieminimum* oder, wie andere diesen Zustand umgetauft haben, auf dem Basalstoffwechsel und hiermit beginnt, wenn die Temperatur weiter steigt, die von mir aufgedeckte physikalische Regulation.

Das ist der Zustand, in welchem ein Tier sich mit Hilfe seiner ganzen Einrichtung, seinem Fettbestand, seinem Pelzschutz ohne weiteres auf seiner Leibestemperatur halten kann.

Dieses thermische Gleichgewicht ist aber nur dadurch ermöglicht, daß der Energieverbrauch gemäß der ungleichen Oberfläche ungleich großer Tiere abgestimmt ist, wie das Experiment gezeigt hat. Die gesamte Zellmasse zeigt also eine Anpassung an der ungleichen Oberfläche bei ungleicher Größe.

Steigt die Temperatur weiter, so tritt Wärmestauung ein. Das Oberflächengesetz bedeutet außerdem Abstrom gleicher Wärmemenge durch dieselbe Fläche: In demselben Maße wie die umgebende Temperatur steigt, bleibt zunächst der Ausweg, mehr Blut in die Haut zu senden, und dann die Steigerung der Wasserverdunstung, die schließlich auch den Fällen gewachsen ist, wo die Umgebung über Bluttemperatur liegt.

Die thermischen Einwirkungen bei steigender Außentemperatur bleiben also für große und kleine Tiere, auf die Oberfläche gerechnet, ganz dieselben. Die Einstellung des von der chemischen Regulation unabhängigen Teiles der Wärmebildung erfolgt im Laufe des natürlichen Wachstums eines Tieres. Die biologische Bedeutung des Oberflächengesetzes hat also eine wesentliche Erweiterung erfahren. Die theoretisierenden Betrachtungen hatten immer nur die „Zweckmäßigkeit“ der Anpassung an den Wärmeverlust ins Auge gefaßt, während die Akkomodation im Gebiete der Wärmestauung und physikalischer Regulation zu den gleichen Konsequenzen führt¹⁾.

Diese zahlenmäßige Ordnung muß auch in der Natur bestehen, da doch in den Tropen wohl vielfach die Tierwelt unter Bedingungen lebt, welche einen ausgiebigen Gebrauch der chemischen Wärmeregulation zeitlebens kaum erfordert.

¹⁾ Gesetz des Energieverbrauchs, S. 286.

Die physikalische Regulation wird nach *O'Connor*¹⁾ vom vasomotorischen Zentrum aus besorgt, indem sich zunächst, noch ehe andere Erwärmungen in die Erscheinungen treten, eine Zunahme der Hirntemperatur ausbildet. Die Streitfrage des Bestehens der chemischen Wärmeregulation beim Menschen will ich nicht ausführlicher behandeln. Experimentell stehen noch aus Untersuchungen halbwilder Völkerschaften, welche bei unvollkommener Kleidung selbst rauhen Klimaten Widerstand leisten, wie z. B. die Feuerländer. Im übrigen zeigen alle hygienischen Beobachtungen das Ergebnis, daß ein großer Teil der Menschen im „überwarmen Klima“ lebt, d. h. ihre Kleidung ist so unangemessen, daß sie erst nach erheblichem Senken der Hauttemperatur in die Zone der chemischen Regulation hineinkämen. Viele frieren, obschon ihre Körperoberflächentemperatur erst innerhalb der Zone physikalischer Regulation sich senkt. „Frostgefühl“ ist etwas Anerzogenes und hängt mit dem Grenzpunkt des Wechsels der Regulation überhaupt nicht zusammen. Nicht zu vergessen ist das reichliche Fettpolster vieler Personen, das ein Wärmereservoir bildet und immerhin für lange Zeit einen Wärmezuschuß gibt, wenn die Anforderungen an die Entwärmung plötzlich gesteigert werden. Die neueren Versuche von *Hill* und von *Bergmann* geben ausreichende Beweise für das Bestehen der chemischen Regulation „ohne“ Bewegungen, so daß ich darauf verzichten kann, noch weitere hier anzufügen. Unentschieden bleibt die Annahme von Heizhormonen als Regulationsmittel. Trotz dieser ganz klaren thermischen Zusammenhänge liegen Erklärungsversuche vor, die einen anderen kausalen Zusammenhang anzunehmen bestrebt waren. So hat z. B. *Zuntz* bei einer anderen Auffassung sich darauf gestützt, daß auch bei Kaltblütern das Oberflächengesetz bestehe. Die letztere Annahme hatte aber zur Zeit, als *Zuntz* sich so aussprach, noch gar keinen sicheren Boden. An Stelle eines thermischen Zusammenhanges glaubte *Zuntz*, als allgemeinwirkenden Faktor die Arbeitsleistung setzen zu dürfen. Er glaubt, daß bei kleinen Tieren der Umsatz für die gleiche Arbeitsleistung (etwa Gehen oder Laufen) bei verschiedenen großen Tieren sich wie die Verschiedenheiten der Oberfläche verhielten. Dieser strenge Nachweis ist aber auch von ihm nie erbracht worden. Es würde auch an sich nicht notwendig zu einer Einstellung des Gesamtenergieverbrauchs eines Tieres in der Ruhe führen müssen. Außerdem sind die Arbeitsleistungen der Landtiere (auch der Amphibien und Reptilien) so ungleicher Natur und Näheres überhaupt nicht bekannt, der Energieverbrauch beim Schwimmen in seiner Größenordnung absolut ungeklärt, daß sich aus bloßen Experimenten an ein paar Säugetieren unmöglich allgemeine Schlüsse ziehen

¹⁾ Journ. of physiol. 52, 267, 1919.

lassen. Aber auch bei den Säugern selbst fehlt der experimentelle Beweis für den Zusammenhang von Arbeitsleistungen mit der Körperoberfläche.

Dies geht ohne weiteres aus den Experimenten hervor, die *B. Sloutzoff*¹⁾ im *Zuntz*schen Laboratorium ausgeführt hatte. Er hat an verschiedenen großen Hunden teils Geharbeit, teils Steigarbeit ausführen lassen. Wenn man die Originalarbeiten durchsieht, sagt *Sloutzoff*, daß der Arbeitsaufwand für Horizontalbewegung „nur annähernd proportional sei“, tatsächlich ergibt sich aber nur das eine, daß bei 5 bis 7 kg schweren Tieren die Kalorienmenge, welche zur horizontalen Fortbewegung von 1 kg um 1000 m = 2679 bis 2124 beträgt, für Tiere von 11 bis 14 kg nur 1546 bis 1500 Cal ausmacht. Für 23 Cal bis 36 kg sind aber überhaupt kaum Unterschiede zu sehen (1123, 1343, 1245 Cal). Von einer Gesetzmäßigkeit zur Oberfläche ist also hier wenig zu sehen. Was aber gar den Arbeitsaufwand für *Steigarbeit* betrifft, so ist dieser bei den kleinsten Tieren, 5 bis 7 kg, fast genau ebenso groß wie bei den großen Hunden (für 1 mkg 5,143 bis 6,185 kg/cal für die ersteren, 5,876 bis 6,371 kg/cal für die letzteren). Gerade die stärkste Arbeitsleistung zeigt überhaupt keinen Zusammenhang mit der Körpergröße, wie *Sloutzoff* hervorhebt.

Mit der Besprechung der Frage des Energieverbrauchs bei den Kaltblütern und dessen Beziehung zur Oberflächenentwicklung begeben wir uns auf ein Gebiet, das eine eigentliche Bearbeitung bis jetzt nicht gefunden hatte.

Eine Arbeit, welche sich früher mit der Stellung des Energieverbrauchs der Kaltblüter zur Körperoberfläche beschäftigt, ist die von *Erwin Voit*²⁾, die sich nur auf die Zusammenstellung anderer Untersuchungen, speziell auf jene von *Krehl* und *Soetbeer* gründet.

Letztere haben sich in ihren eigenen Resultaten sehr vorsichtig ausgedrückt, während *E. Voit* aus den Angaben von *Krehl* und *Soetbeer* den Schluß zieht: Es scheint mir aus den angeführten Werten ohne weiteres der maßgebende Einfluß der Oberflächenentwicklung auf die Zersetzungsgröße der poikilothermen Tiere hervorzugehen“. Den weittragenden Schluß wird man schwer billigen können, denn vier Versuche aus dem Gebiete der Amphibien kann man noch nicht als Entscheid für sämtliche Poikilothermen ansehen. Irgend einen Grund, warum das Oberflächengesetz für die gesamten Poikilothermen gelten muß, gibt auch *E. Voit* nicht an, er hat sich auch später zu diesem Thema nicht geäußert.

Auch die Versuche von *Knauth*³⁾ geben noch keine Beweise für zahlenmäßige Beziehungen zwischen Energieverbrauch und Ober-

¹⁾ Pflügers Arch. **95**, 190, 1903.

²⁾ Zeitschr. f. Biol. **41**, 153, 1901.

³⁾ Pflügers Arch. **73**, 492.

fläche, seine Zahlen weichen auch schon der Größenordnung nach um ein Mehrfaches von den in der ersten Abhandlung von mir gegebenen Zahlen ab.

Z. B. werden für 800 g schwere Karpfen 17,2 kg/cal pro Tag und Kilogramm und für Tiere von 335 g 16,8 kg/cal angegeben. Das wären 971 bzw. 1258 qcm pro Kilogramm als Oberfläche, woraus sich 177,1 und 129,0 kg/cal pro 1 qm berechnen (bei etwa 18°).

Ich habe schon 1902 darauf hingewiesen, daß mir thermische Einflüsse, und zwar solche aus dem Gebiete der physikalischen Regulation auch bei Kaltblütern durchaus möglich scheinen, ein weiteres Eingehen ohne grundlegendes Material schien mir gegenstandslos.

Sehr ausführlich hatte ich in meinem Buche¹⁾ darauf aufmerksam gemacht, wie z. B. *Pütter* das Oberflächengesetz ohne weiteres auf die im Wasser lebenden Säuger anwendet, ohne zu bedenken, daß 1 qm Oberfläche bei Berührung mit Wasser selbstverständlich thermisch etwas ganz anderes ist als die Luftberührung.

Ganz unanwendbar wird das Oberflächenmaß im Gebiete der Hefen und Bakterien, wie schon bemerkt.

Im folgenden will ich näher untersuchen, ob der Oberfläche irgend eine kausale Bedeutung zukommt, wenn man das in vorstehenden Abhandlungen vorgeführte Material betrachtet. Die Kaltblüter sind Organismen mit rudimentärer oder auch etwas vollkommener ausgebildeten Einrichtungen der physikalischen Regulation. Andere thermische Mittel der Temperaturregulierung besitzen sie nicht.

Die zahlreichen Bestimmungen des Energieverbrauchs bei den bisher aufgeführten Kaltblütern haben, um es nochmals zu sagen, gezeigt, daß tatsächlich die kleinen Tiere einen größeren relativen Verbrauch haben als die großen. Ferner hat sich bestimmt erweisen lassen, daß diese Ungleichheit verschwindet, wenn man die Berechnung für jede Spezies auf die *Oberflächeneinheit* vornimmt, endlich daß aber, pro Quadratmeter Oberfläche gerechnet, *zwischen den einzelnen Spezies keine Übereinstimmung wie bei den Warmblütern besteht, sondern zum Teil recht erhebliche Unterschiede*. Ich habe berechnet für 1 qm und Tag bei 16°:

für Fische	33,08
„ Frösche	97,5
„ Echsenarten im Mittel	40,4

Aber da stoßen wir auf die Frage, ob denn bei einem Vergleich der Spezies untereinander die Oberfläche irgend eine Vergleichseinheit ist und ob nicht andere Ursachen und Beziehungen der Tiere zueinander vorhanden sind. Die Oberflächenentwicklung ist nämlich bei den hier in Vergleich gestellten Tieren sehr verschieden.

¹⁾ Ernährungsphysiologie der Hefezelle, S. 26.

Für einige erwachsene Säuger mögen meine Zahlenwerte pro 1 qm zum Vergleich angegeben sein.

	kg/cal pro qm im Tag		kg/cal pro qm im Tag
Mensch	1042	Kaninchen	917
Schwein	1078	Meerschweinchen ¹⁾	1131
Hund	1039	Maus ¹⁾	1188

Wenn alle diese Tiere fast dieselbe Wärmemenge pro 1 qm produzieren, so würden auch alle gleich großen Tiere in der Wärmebildung übereinstimmen.

Wenn wir nun die folgende Betrachtung anstellen, wie viel Wärme von verschiedenen Poikilothermen erzeugt wird, wenn wir sie nach ihren Oberflächenwerten auf eine einheitliche Größe umrechnen, so ergibt sich ein ganz anderes Bild wie bei den Homöothermen.

Ich nehme beliebig z. B. einen Frosch von 46 g Gewicht. Ein gut genährtes Tier hat die Oberflächenkonstante 4,6, also 59 qcm Oberfläche, ein Fisch von 46 g bei einer Konstante = 9 115 qcm, eine Eidechse von 46 g bei einer Konstante = 12,5 160 qcm, eine Ringelnatter von 46 g bei einer Konstante = 18,6 also 238 qcm.

Die Natur formt also diese Kaltblüter mit höchst verschiedener Oberfläche. Der Unterschied beträgt in dem gewählten Beispiel *das Vierfache*. Wenn die Oberfläche als solche das Maßgebende für den Energieverbrauch wäre, müßte die für 46-g-Tiere errechnete Wärmemenge um das Vierfache differieren. Das Resultat ist aber ein anderes:

	Pro qcm trifft Wärme	Für 59 qcm
Beim Frosch	9,75 g/cal	575 g/cal
„ Fisch	8,31 „	380 „
Bei der Eidechse	4,04 „	646 „

Die Zahlen differieren also nicht erheblich, man könnte etwa sagen, die Wärmebildung ist bei allen drei Tieren pro Kilogramm dieselbe gewesen.

Man könnte sich also die Vorstellung bilden, daß die verschiedene Wuchsform, welche eine verschieden große Oberflächengestaltung zur Folge hat, etwas rein Sekundäres ist, das einen Einfluß für den Energieverbrauch noch nicht gewonnen hat.

Die Frage ist so wichtig, daß ich mich noch nach anderem Material umgesehen habe. In einer kurzen Mitteilung von *Hill* und *Bohr* fand ich Beobachtungen, die für meine Ziele von besonderem Werte sind. *Hill* hat einige Kaltblüter kalorimetrisch untersucht. Die Zahlen von

¹⁾ Neuere Bestimmungen.

Hill sind, was die Frösche anlangt, allerdings niedrig, möglicherweise spielen hier die Spezies eine Rolle. Auch fehlt die genaue Angabe des Tiergewichtes, was man, glaube ich, aber für Frösche und die Schlange ergänzen, bei der Kaulquappe etwa schätzen kann. Die Tiere sind sämtlich in einem mit Wasser beschickten Raume untersucht. Die in Frage kommenden Zahlen sind von mir berechnet worden.

Frösche 15 g, pro 1 kg und Tag 13,32 kg/cal, Oberfläche pro 1 kg 1861, also 72,8 kg/cal pro Quadratmeter und Tag.

Schlange (offenbar Ringelnatter) 85 g, pro 1 kg und Tag 10,32 kg/cal, Oberfläche 4212 (nach eigenen Beobachtungen) = 24,5 kg/cal pro 1 qm.

Kaulquappe? 10 g = 12,24 kg/cal pro 1 kg. Ich nehme als Oberflächenberechnung die Konstante der Eidechse pro 1 kg = 5755 qcm = 21,2 kg/cal pro 1 qm.

Bei der Kaulquappe müßte man wahrscheinlich das Gewicht etwas kürzen, weil sie gewöhnlich ihren Leib mit Nährmaterial vollgestopft hat, reichlich mit Vegetabilien, zu deren Verarbeitung ihr langer Darm sie befähigt.

Da alle Beobachtungen *Hills* bei 20° gemacht, meine Angaben sich auf 16° beziehen, so wird man seine Werte etwa mit 0,875 zu multiplizieren haben, dann erhält man pro Quadratmeter und Tag:

für Frösche	54,9 kg/cal
„ eine Schlange	21,4 „
„ die Kaulquappe	18,5 „

Für 1 qcm berechnet sich an Wärme:

beim Frosch	5,49 kg/cal
bei einer Schlange	2,14 „
bei der Kaulquappe	1,85 „

*Bohr*¹⁾ hat bei einem Embryo der Ringelnatter von 0,5 g und einer jungen Natter von 3,8 g Kohlensäurebestimmungen gemacht, die hier noch erwähnt sein mögen. Die Werte bei 15° sind so ungemein niedrig, daß man daran denken muß, die Natter selbst sei bereits etwas im Dämmerzustand gewesen und für den Embryo sei die Temperatur zur Entwicklung zu gering. Dagegen zeigen die Werte für 23° Größen, die mit den Angaben von *Hill* vereinbar sind. Aus den Kohlensäurewerten berechne ich pro 1 kg Tier und Tag beim Embryo 81,2 kg/cal und bei der Natter 33,8 kg/cal.

	Auf 1 qm Oberfläche
Beim Embryo	35,5 kg/cal
Bei einer jungen Natter	27,5 „

(bei 15° wäre der Wert des Embryos niedriger, der der Natter höher).

¹⁾ Über den respiratorischen Stoffwechsel beim Embryo kaltblütiger Tiere, Skand. Arch. 1905, S. 33.

Rechnet man von 23^0 mit den sonst üblichen Konstanten der Temperaturvariation auf 16^0 zurück, so würde man etwa 28,0 kg/cal für den Embryo und 21,7 kg/cal für die junge Natter erhalten.

Zum Vergleich der Wärmebildung für die Masse von 46 g Größe würde man erhalten:

Embryo (2,8.238)	666,4 g/cal
für die Natter	516,4 „

Nummehr lassen sich die Werte *Hills* und *Bohrs* mit den übrigen kombinieren:

Die Resultate zusammengestellt ergeben pro 24 Stunden bei 16^0 in Grammkalorien:

Kaulquappe (<i>Hill</i>)	296
Frosch, temp. (<i>Hill</i>)	324
Fische (<i>Rubner</i>)	380
Schlange (<i>Hill</i>)	529
Schlange (<i>Bohr</i>)	516
Schlangenembryo.	666
Eidechsenarten (<i>Krehl</i> und <i>Matthes</i>) .	646
Frosch, escul. (<i>Pott</i> , <i>Krehl</i>)	575

Die obigen Werte weichen von dem Gesamtmittel 466 nach oben und unten in nicht erheblichem Maße ab, wenn man bedenkt, daß eben nur die Frage zur Entscheidung steht, ob denn Unterschiede um das Vierfache vorkommen oder nicht. Das Resultat beweist, was übrigens schon oben gesagt wurde, daß die Oberfläche nicht im kausalen Zusammenhange mit dem Energieverbrauch steht.

Das Oberflächengesetz kann für den Vergleich verschiedener Spezies zueinander nicht angewandt werden. Der Energieverbrauch aus den Oberflächenwärmewerten berechnet, führt zu dem Schluß, „gleiche Masse gleiche Wärme“, d. h. das Protoplasma zeigt keine spezifische Eigenart des Energieverbrauchs. Wohl aber sprechen die Ergebnisse mit Bestimmtheit dafür, daß Tiere derselben Spezies, aber ungleicher Größe einen Energieverbrauch haben, der auf den Quadratmeter als Einheit berechnet, übereinstimmt.

Würden mit einem Schlage die Kaltblüter sich in Warmblüter verwandeln können, so müßte der Energieverbrauch der Oberfläche proportional werden, d. h. sich bei manchen Tieren, z. B. Schlangen usw., wesentlich erhöhen, um ein thermisches Gleichgewicht zu ermöglichen.

Die Oberflächenrechnung gibt beim Kaltblüter unter Umständen rechnerischen, aber keinen biologischen Zusammenhang. Es ist unbedingt notwendig, weitere Arbeiten auf diesem Gebiete auszuführen. Exakte Fortschritte können nur erreicht werden, wenn man die heutige Skizze der Lebenserscheinungen in gründlicher Arbeit neu aufbaut. Wenige sorgfältige und umfassende Messungen sind den zahlreichen

unvollkommenen Beobachtungen, deren es eine große Menge gibt, vorzuziehen.

Wie es kommt, daß im Laufe der Entwicklung bei einer Spezies der Energieverbrauch zahlenmäßig sich so gestaltet, wie die Oberfläche sich ändert, muß einer eingehenden Besprechung unterzogen werden. Auch bei den Wirbellosen finden sich Andeutungen dafür. Wenn es aber die Oberfläche nicht ist, auf die sich die Entwicklung des Energieverbrauchs beziehen kann, was ist es dann, was eine gewisse Ordnung in den Ablauf des Entwicklungsganges und in die Energetik hereinbringt?

Dann sind also die Berechnungen, wie gesagt, nur scheinbare Zusammenhänge, so weit das Gebiet der Homöothermen reicht? Oder liegt in den Verhältnissen der Säuger noch etwas verborgen, etwas Allgemeineres, das einen Zusammenhang mit den niederen Tieren vermittelt? Die Tatsachen liegen fest, es heißt also, nur den richtigen Faden zu finden. Das ist möglich, und die Lösung wird uns höchst einfach erscheinen.

Zum Verständnis wird es am besten, wir rufen uns die Vorgänge des Wachstums beim Säuger ins Gedächtnis.

Was die Entwicklung der Tiere anlangt, so verlaufen nach meinen Untersuchungen an Warmblütern die Prozesse so, daß wir eine fortschreitende Massenbildung in der Jugendperiode sehen. Dieser Vorgang setzt sich aus zwei ernährungsphysiologischen Zuständen zusammen, einmal aus dem Betriebsstoffwechsel, der sich ganz allgemein nicht mit der Masse, sondern nach den Oberflächenzahlen ändert, d. h. mit der Verdopplung der Masse auf etwa das 1,58fache steigt. Auf den Betriebsstoffwechsel setzt sich das Wachstum auf, fast allgemein so, daß die Nahrungsaufnahme im Wachstum um etwas mehr als das Doppelte so groß ist als der einfache Betriebsstoffwechsel, von dem Nahrungsüberschuß wird ein bestimmter, ziemlich gleichbleibender Anteil als Anwuchs angesetzt, ein Teil der Energie geht durch die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe im Stoffwechsel verloren.

Der Wachstumsanteil hängt eng mit dem Betriebsstoffwechsel zusammen. Je größer dieser ist, um so mehr kann in der Zeiteinheit zum Ansatz kommen. Prozentisch besteht also in einer bestimmten Entwicklungsperiode ein bestimmtes Verhältnis, Wachstumsverbrauch : Betriebsstoffwechsel.

Dieses Verhältnis zwischen Betriebsstoffwechsel und Ansatz wird reguliert wahrscheinlich durch die Wachstumsdrüsen unter Vermittlung des kolloidalen Zustandes der Zellen, was ich vor kurzem wahrscheinlich gemacht habe.

Das Ausgangsmaterial, die Eier der Tiere, sind nicht wesentlich verschieden. Die Entwicklung erfolgt so, daß relativ bald die wesentlichen Organe angelegt sind, dann folgt die weitere Massenzunahme unter allmählicher Verlangsamung, dann die innere Ausbildung des Körpers bei einem Tiere kleiner Rasse rasch, bei einem Tiere einer großen Spezies in längerem Zeitraum. Alle enden beim Erwachsensein mit derselben prozentigen Verteilung der Organe. Wir hegen keinen Zweifel, daß diese Ordnung der Reihenfolge in der Entwicklung auf vererbten Eigenschaften beruht. Die ausführenden Organe aber dieses vererbten Entwicklungsschemas sind zum Teil die Hormone von Drüsen. Nach einer bestimmten Anzahl von Verdopplungen, die bei großen Tieren zahlreich sind, bei kleinen geringer an Zahl (die Varianten sind übrigens nicht allzu groß), wird das Gewicht des Muttertieres bzw. der Rasse erreicht. Die ersten Verdopplungen erfolgen rasch, die späteren langsamer. Der Kaltblüter verhält sich jedenfalls in dieser Hinsicht nicht anders. Beispiele des Wachstums finden sich in der vorigen Abhandlung wiedergegeben.

Beim Warmblüter ist die erste Zeit der Verdopplung des Gewichts nach der Geburt um so kürzer, je kleiner das Lebendgewicht ist, und die Verdopplungszeiten werden allmählich länger. Auch beim Kaltblüter sehen wir, wie die Verdopplungszeiten mit der Dauer des Wachstums zunehmen.

In der Zeit der ersten Verdopplung nach der Geburt besteht für den Energieverbrauch der Zusammenhang, daß zur Verdopplung der Masse — der Mensch ausgenommen — dieselbe Energiemenge verwendet wird. Wir haben oben gesehen, diese zahlenmäßige Bindung übernimmt der Säuger schon von den Fischen, und ebenso ergab der Nutzeffekt, d. h. der Prozentsatz der Nahrung, welche zum Aufbau verwendet wird, sich bei Fischen und Säugern derselben Entwicklungs-epoche als gleich groß. Eine Änderung einer dieser Wachstumsfaktoren (Zeit) würde die Wachstumskurve eines Tieres ändern müssen. Das geschieht nicht. Diese Vorgänge hängen eben biologisch jedenfalls mit der Art der Zellteilung und dem Umbau der Zelle, also Prozessen zusammen, die als vererbte Eigenschaften betrachtet werden können.

Wie wir also eine morphologische, streng geordnete Wachstumskurve haben, und wie die Massenverhältnisse ein statisches gleiches Verhältnis aufweisen, so liegt es doch nahe, auch aus inneren Gründen eine allmähliche Verringerung des Energieverbrauchs und der wachsenden Masse anzunehmen, die wie der Anwuchsquotient auch von Drüsen-sekreten geleitet wird.

Die Säuger erscheinen uns da plötzlich gar nicht mehr das beste Material zum Studium, sie sind zu kompliziert, nur eine kleine Zahl von Verdopplungen erfolgen extrauterin. Aber in eins haben wir

doch schon hineinleuchten können, daß der Embryo und Fötus im Tierleibe keine *Vita minima* führt. Meine mit *Lanystein* zusammen ausgeführten Versuche an Frühgeborenen zeigen uns mit Bestimmtheit den steigenden Bestribsstoffwechsel der früheren Zeit und den hohen Anwuchs, alles Zeichen eines besonders intensiven Lebensvorganges. Gerade die früheren Stadien des Lebens haben für uns das größte Interesse, und nur aus ihnen heraus kann uns ein Verständnis für die allgemeinen großzügigen Beziehungen der Wachstumsgesetze überhaupt erstehen.

Wir erinnern uns jetzt aus den Arbeiten von *Tanql* über den Energieverbrauch im Hühnerei, daß sicher die ersten Anlagen des neuen Tieres viel mehr an Wärmebildung, also einen sehr hohen Betriebsstoffwechsel zeigen. Wir erinnern uns weiter, daß gerade die ersten Zellanlagen, wie ich aus Beobachtungen von *O. Hertwig* dargetan habe, ein so mächtiges Wachstum erkennen lassen wie einzellige Wesen (Hefe), deren Energieverbrauch ein ungeheuer großer ist. Und Wachstum und Betriebsstoffwechsel hängen zu einem gewissen Grade zusammen. Was wir also als Gemeinsames im Wachstum aller Lebewesen sehen, ist die hohe Lebensintensität, wenn einmal die Befruchtung das neue Leben erweckt hat. Man sieht jetzt den Weg, der uns zum Ziele führt. Wir scheiden die Frage der Oberfläche zunächst vollkommen aus.

Die Lösung des ganzen Problems ist eine höchst einfache, sie gilt generell für alle Wachstumsvorgänge, bei denen Massenverschiedenheiten vorkommen, so daß wir eine Theorie des Wachstums aufstellen können, welche auf wenige elementare Grundlagen zurückgeführt werden kann. Wie die Reifung und der Abschluß des Wachstums zustande kommt, habe ich vor kurzem dargelegt. Die Erklärung des Gesetzes der Massenbildung und des Energieverbrauchs ist nicht minder einfach; ich will das Wichtigste in wenigen Sätzen zusammenfassen, die zunächst für das Wachstum von Eiern, die in der Natur abgesetzt werden, gedacht sind, aber auch für die Modifikation der Fruchtausbildung gelten, die wir bei den Lebendgebärenden sehen.

Für das Wachstum der Tiere im allgemeinen kommen folgende biologischen Gesichtspunkte in Betracht:

a) Die nach der Befruchtung einsetzende Vermehrung der Zellen liefert Material mit hohem Energieumsatz, wozu außerdem durch die Quellung der Zellen ein besonders großes Vermögen an Assimilation verliehen wird. Mit mächtigem Wachstum setzt also der neu zu bildende Organismus ein, so daß die ersten Stadien der Ausbildung unter rasch sich folgenden Teilungen schnell beendet sind. Diese natürliche Ordnung muß sich biologisch von großer Bedeutung erweisen, weil die gefährdetste Zeit der Jugend schnell durchlaufen und günstige äußere Verhältnisse tunlichst ausgenutzt werden.

b) Der sich neu bildende Organismus steht in seinem Energieverbrauch wesentlich und um ein Mehrfaches höher als der elterliche Energieverbrauch. Er beginnt mit einer *Vita maxima*.

c) Das Ziel allen Wachstums ist, einen neuen, dem elterlichen gleichen Organismus zu schaffen, der nicht nur nach Gestalt und Größe, sondern auch in seinem Energieverbrauch sich nicht vom elterlichen unterscheidet, folglich muß eine allmähliche Verringerung des Kraftwechsels pro Kilogramm sich ausbilden. Gleiche Masse und Form mit dem elterlichen Organismus geben auch gleichen Energieverbrauch pro Oberfläche, ohne daß deshalb die Oberfläche dauernd den Stoffwechsel beeinflusst.

d) Mit jeder der sich wiederholenden Teilungen wiederholt sich mit zunehmender Vergrößerung die Reduktion der Intensität des Energieverbrauchs um denselben Bruchteil (um etwa das 0,787fache).

e) In jedem Zwischenstadium der Entwicklung, also den einzelnen Phasen der Ausbildung, wird der neuen Masse auch eine entsprechende Veränderung der Oberfläche folgen müssen. Die Reduktion der Intensität des Energieverbrauchs läuft also zwangsläufig auch parallel der Oberfläche. Erwiesen ist das durch die Untersuchungen über den Energieverbrauch der verschiedenen Stadien der Entwicklung.

f) Die Oberflächenberechnung kann also auch da zur Berechnung verwendet werden, wo sie kausal der Größe des Energieverbrauchs nicht einmal bedingt. Wir haben also zum Wachstum nur zwei grundlegende Fragen notwendig:

1. den Reduktionsprozeß des relativen Energieverbrauchs, d. h. den Energieverbrauch der Gewichtseinheit, der im Tierreich nicht ins Endlose geht, sondern in den größten Tieren nach einer 33- bis 36maligen Verdopplung sein Ende findet;

2. den eigentlichen Prozeß des Anwuchses, der maximal mit der ersten Zeit der Entwicklung beginnt und durch Regulation des kolloidalen Verhältnisses im richtigen Moment das Wachstum auch zum Abschluß bringt.

Auf diesen beiden Sätzen läßt sich der ganze Verlauf des Wachstums eines mehrzelligen Wesens oder des Kaltblüters und Warmblüters theoretisch aufbauen, und es lassen sich die energetischen Grundsätze über Nahrungsquote, Energieverbrauch während einzelner Verdopplungen einfügen.

3. Die Grundlage allen Wachstums liegt in den Eigenschaften der Zellanlage. Diese letzteren scheinen sehr gleichartiger Natur bei den Warmblütern und Kaltblütern wenigstens zu sein, denn für erstere habe ich ja schon erwähnt, daß Warmblüter gleicher absoluter Größe kaum Verschiedenheiten des Energieverbrauchs haben. Daher ist es auch wahrscheinlich, daß der Energieverbrauch in den frühesten

Stadien ihrer Entwicklung etwa der gleiche ist, und für den Kaltblüter scheinen mir nach den S. 295 gegebenen Auseinandersetzungen dieselben Verhältnisse vorzuliegen. Ich habe nun noch einiges über den Entwicklungsvorgang der Kaltblüter und Warmblüter anzufügen.

Bei den Kaltblütern haben wir einen Entwicklungsgang, der sich nach den eben unter 3. angeführten Hauptfaktoren des Wachstums leicht verstehen läßt. Im Leben der Fische tritt ausnahmsweise eine primitive Wärmeregulation auf, falls sich die Temperaturen des Wassers sehr erhöht haben. Es kann dabei sogar zur Wärmestauung kommen, die groß und klein in derselben Weise trifft und abgewendet werden kann durch verstärkte Kiemenatmung. Vielleicht darf ich hier an *Thynnus pelassus* erinnern, von dem schon *John Davy* angegeben hat, daß er sich in tropischen Meeren bei 27° Wassertemperatur stark erwärmt, so daß die Muskeltemperatur bis 37,2° steigt¹⁾.

Bei Amphibien und Reptilien haben wir im Landleben und besonders durch die Lungenatmung eine Regulation, die sich die Wasserverdunstung zunutze macht, im allgemeinen aber, wenigstens in den von mir beobachteten Fällen, zum Zwecke der Verhinderung der Erwärmung des Protoplasmas über mäßige Temperaturgrade hinaus verwendet wird. Diese Regulation, eine physikalische, hat noch recht primitive Verwendung gefunden. Das Grundmaterial muß hier vielmehr erweitert werden. Es ist sehr wohl denkbar, daß bei anderen Spezies auch ein lebensrettender Einfluß gegen eine gefährliche Übererwärmung, die hier zum erstenmal an die Oberflächenentwicklung kausal anknüpft, geleistet werden kann. Die Amphibien und Reptilien haben bereits eine echte Polypnoe, falls ihre Erwärmung gewisse Temperaturgrade erreicht.

Den Sprung zum Warmblüter machen zwei Veränderungen:

1. Die Ausbildung der Behinderung des Wärmeverlustes durch ein Feder- oder Haarkleid (oder Fettisolierung bei Säugern, die im Wasser leben) mit Einschluß der schlechtesten Wärmeleiter der stagnierenden Luft, und die fernere Umgestaltung der physikalischen Regulation und ihre Einstellung auf die normale Temperatur des Warmblüters. Die Oberfläche wird jetzt ein bestimmender Faktor für das Verhalten der Tiere.

Ein solcher Organismus hat also die Fähigkeit, bei einer genügenden Höhe der Lufttemperatur sich als homöotherm zu erhalten. Das ist der Zustand, in dem Tiere mit ausgeschalteter chemischer Regulation sich befinden.

2. Zur Vollendung des „Warmblüters“ gehört die Entstehung eines neuen regulatorischen Zentrums im Gehirn, d. h. die Bildung

¹⁾ *Winterstein*, Handb. d. vergl. Physiol. 3, II.

des chemischen Regulationsmechanismus. Ein Warmblüter ohne diese wäre ein recht unvollkommenes Geschöpf, streng gebunden an hohe Lufttemperatur und im Falle zufälliger Abkühlung nur in der Lage, durch Muskelbewegung sich wieder zu erwärmen. Das für ihn passende Klima könnte er aber kaum je verlassen. Die chemische Wärmeregulation entsteht nicht immer rechtzeitig mit dem Akte der Geburt. Manche Tiere gelangen erst einige Zeit nach der Geburt in den Gebrauch dieser wichtigen Regulationseinrichtung.

Die Wachstumsvorgänge der ersten Zeit sind uns beim Säuger durch das extrauterine Leben etwas verdeckt. Hier können die Lebensvorgänge bei den Kaltblütern vergleichend physiologisch unser Wissen ergänzen.

Unsere Betrachtungen brauchen aber bei den Wirbeltieren nicht haltzumachen. Ich habe früher schon¹⁾ darauf verwiesen, daß es kaum ein Zufall sein wird, wenn ganz verschiedene, aber gleich große Tiere denselben Energieaufwand zeigen, ein Frosch von 1 g bei 18° und 3,3 kg/cal, eine Puppe von 1,03 und 2,4 kg/cal, ein Maikäfer von 1 g und 2,8 kg/cal pro 1 g N, all dieses sind Werte, welche eine unverkennbare Zusammengehörigkeit und ähnlichen Energiebedarf der lebenden Substanzen verraten.

Durch die vorliegenden Betrachtungen haben wir das Wachstumsproblem vergleichend physiologisch auf wenige einfache Grunderscheinungen zurückgeführt und so eine allgemeine verwendbare Theorie des Wachstums hinsichtlich der energetischen Verhältnisse geschaffen, in welche sich meine früheren Beobachtungen über das Wachstum in befriedigender Weise eingliedern²⁾.

C. Kaltblüter und Warmblüter.

Über die Möglichkeit der Verknüpfung des Energieverbrauchs der Kaltblüter und Warmblüter habe ich mich früher ausführlich geäußert und bin zu dem Schluß gekommen, daß eine solche Brücke zwischen den beiden Tierreihen wohl geschlagen werden kann.

Tigerstedt kommt bei seiner Darstellung des Wärmehaushalts der Tiere³⁾, anscheinend ohne Kenntnisnahme meiner Veröffentlichungen, zu der gegenteiligen Auffassung.

Da diese Frage aber gewiß von allgemeiner Bedeutung und jetzt noch sicherer zu entscheiden ist wie früher, will ich in nachfolgendem auf sie zurückkommen.

¹⁾ Kraft und Stoff im Haushalt der Natur 1909, S. 90.

²⁾ *Rubner*, Das Problem der Lebensdauer 1908; Kraft und Stoff im Haushalt der Natur 1909.

³⁾ *Winterstein*, Handb. d. vergl. Physiol. 3, X, S. 83.

Vergleiche der Wärmebildung bei den Kaltblütern und den Warmblütern anzustellen, dazu fehlt uns die Möglichkeit, wenn man dazu die Kaltblüter auf die Temperatur der Warmblüter bringen soll. Das vertragen die meisten Tiere schlecht oder gar nicht.

Die Abkühlung der Warmblüter gelingt, wenn das Rückenmark durchtrennt wird; solche Versuche hat *Pflüger* anstellen lassen. Ich habe diese Ergebnisse früher zum Vergleich benutzt, der einzige normale Vergleich liegt aber bei den Warmblütern mit Winterschlaf bei starker Abkühlung ihres Körpers. Solche Versuche liegen von *Nagai* vor, der sie in Göttingen ausgeführt hat. Die umfangreiche Abhandlung¹⁾ ist wenig bekannt geworden, da sie sehr unübersichtlich dargestellt, ernährungsphysiologisch nicht ausreichend durchgearbeitet ist und Schwierigkeiten bereitet, die Zahlen einer sachgemäßen Durchrechnung zu unterziehen²⁾.

Berechnung des Stoffwechsels des Murmeltieres im schlafenden Zustande. Respirationsbedingungen s. Tabelle 251 vom 21. Dezember 1905 bis 5. März 1906, CO_2 pro Kilogramm und Stunde = 0,0368 g $\times$ 24 = 0,883 g CO_2 pro Kilogramm und Tag = 0,2411 g C.

Harn-N bestimmt 22. Januar bis 8. März 1906, pro Kilogramm und Tag 0,0133 g N. 0,73 = 0,0097 g C im Harn,

also Gesamt-C = 0,2411

+ = 0,0097

= 0,2508 C pro Kilogramm und Tag

ab 0,0133.3,2 = 0,043 C aus Eiweiß

bleibt C aus Fett 0,207 g

Kalorien pro Kilogramm und Tag aus Fett 2,54

aus Eiweiß 0,33

Summe der Kalorien 2,87 bei 10° Körpertemperatur

Demnach 11,52 Proz. aus Eiweißkalorien, 88,5 Proz. aus Fett, was einem Tiere im Hungerzustande entspricht.

Gewicht ist angegeben (l. c., S. 335) zu 3,150 kg, pro 1 kg = 596 qcm Oberfläche, also pro 1 qm und Tag bei 10° 47,5 kg/cal.

An Sauerstoffverbrauch wurden pro Kilogramm und Stunde 30,5 ccm bestimmt = 0,732 Liter pro Kilogramm und Tag. Die Kalorienwerte des Sauerstoffs sollten für Fett- und Eiweißverbrennung 4,64 sein nach üblichen Annahmen³⁾, während der Versuch ergibt 0,732 Liter = 2,87 kg/cal, 1 Liter = 3,92 kg/cal.

¹⁾ Zeitschr. f. allgem. Physiol. 9, 243.

²⁾ Ähnliche Ergebnisse lassen sich auch aus Beobachtungen von *Weinland* und *Riehl*, Zeitschr. f. Biol. 49, 39, 1907, ziehen, doch ist die Abhandlung von *Nagai* experimentell breiter angelegt.

³⁾ *Magnus-Levy*, S. 265.

Der Sauerstoffverbrauch ist also zu groß um $3,92 : 4,64$ um 18,4 Proz.
 $0,326 \text{ g Fett pro Kilogramm und Tag sollten verzehren} \times 2,019 \text{ Liter O}$
 $= 0,658 \text{ O und } 0,0133 \text{ N} \times 6,225 = 0,083 \text{ g Eiweiß} \times 0,966 = 0,081 \text{ Liter O.}$

$$\begin{array}{r} \text{Summe } 0,658 \\ + 0,081 \\ \hline 0,739 \text{ O} \end{array}$$

Die frühere Berechnung des Stoffwechsels gibt $2,87 \text{ kg/cal}$, die aus dem Sauerstoffverbrauch von $0,739 \text{ 3,40 kg/cal}$. Das wurde als Wirkung der Sauerstoffabsorption aufgefaßt ($0,61 \text{ Respirationsquotient}$).

Zum Teil liegen aber auch andere Gründe vor:

1. wird im Hungerzustande nicht reines Fett verbraucht, sondern eine Mischung, welche etwas weniger Sauerstoffzehrung bedingt;
2. wird nach *Zuntz* der Sauerstoffbedarf des Eiweißes, das der Verbrennung unterliegt, zu hoch angenommen, weil a) zur Berechnung reine Eiweißstoffe genommen sind, nicht „Körperanalysen“, b) weil als Abfallprodukte nur Harnstoff vom Eiweiß abgezogen wird, was falsch ist. Beides führt zu geringeren Kalorienwerten des Sauerstoffs. Ebenso ändern sich auch die zu erwartenden Quotienten.

Alles das zugegeben, bleibt eine mäßige Differenz, d. h. der Quotient im Schläfe des Murmeltieres weist auf eine Zurückhaltung von Sauerstoff, die aber nach den angefügten Korrekturen mir sehr gering, wenn auch noch aufklärungsbedürftig erscheint.

Nummehr bleibt noch der Verbrauch des Murmeltieres in wachem Zustande anzufügen, Leider wird der Versuch von *Nagai* so angestellt und angeordnet, daß sich der ernährungsphysiologischen Verwertung große Schwierigkeiten entgegenstellen. Statt systematisch den Respirationsversuchen die Feststellung der N-Ausscheidung einzuordnen, ist sie zum Teil zu anderer Zeit gemacht, und wo beides gemessen ist, fehlt die Analyse der Nahrungseinnahme. Ich hoffe, aus der wenig übersichtlichen Darstellung die Werte richtig entnommen zu haben.

Tier A.

Gewicht g	Tem- peratur	Sauerstoff pro kg u. Std. ccm	CO ₂ kg u. Std. ccm	Resp. Quotient	Luft- temperatur	Datum
3750	36°	661	440	0,703	11,5	23. X. 1905
3650	38	664	575	0,860	12,0	25. X. 1905
Mittel 3700	37°	662	509	0,783	11,7	—

Das Tier scheint vorher reichlich Nahrung aufgenommen zu haben. Es hat während des Versuchs anscheinend keine Nahrung erhalten. Pro Kilo und Tag $15,89 \text{ Liter O verbraucht} \times 4,64 \text{ kg/cal} = 73,73 \text{ kg/cal}$. Oberfläche K. für ein fettes Tier = 8,6; $3,700 \text{ kg Gewicht} = 2057 \text{ qcm}$. $1 \text{ kg} = 556 \text{ qcm}$.

Auf 1 qm 1326 kg/cal pro Tag, ein sehr hoher Wert allerdings bei 11,7°, der auch nach meiner Kürzung um 10 Proz. für Umrechnung auf 15° noch 1197 kg/cal ausmacht, während Pflanzenfresser in Ruhe etwas weniger zu ergeben pflegen.

Zwei weitere Normalversuche sind zu einer anderen Zeit unter anderen Bedingungen gemacht.

Nach dem Winterschlaf hat Tier A vom 14. bis 24. April 1906 Brot und Milch erhalten, am 9. und 10. Mai 1906 folgen dann zwei Respirationsversuche, am 16. bis 19. Mai wird der Harn untersucht und gefunden, daß das Tier bei Brotzuführung allein im N-Gleichgewicht ist, während es vorher viel N angesetzt hat.

Dann folgt am 31. Mai bis 5. Juni ein Hungerversuch.

Die Zahlen der Fütterungstage sind:

Tier A.

Gewicht g	Tem- peratur	O ₂ -Verbrauch pro kg u. Std. ccm	CO ₂ ausschl. pro kg u. Std. ccm	Resp. Quotient	Luft- temperatur	Datum
2250	37°	593	499	0,84	19,0	9. V. 1906
2250	36	680	527	0,76	19,0	10. V. 1906
Mittel 2250	36,5°	636	513	0,80	19,0	—

Hieraus folgt pro Kilogramm und Tag $636 \times 24 = 15,26$ Liter Sauerstoff und $513 \times 24 = 12,31$ Liter CO₂. In den Tagen kurz nach diesen Messungen war das Tier mit 0,217 g N pro Kilogramm und Tag im Gleichgewicht.

Gefüttert wurde es mit 50 g Brot im Durchschnitt. Dies entspricht rund 0,490 g N und 12,15 g C, wovon 1,62 g auf Protein und 10,53 g C auf Kohlenhydrate treffen (wenn man von den kleinen Mengen Ätherextrakt absieht).

Berechnet man den Kalorienstoffwechsel aus dem Sauerstoffkonsum, so hat man: pro 1 kg Lebendgewicht trifft N-Umsatz pro Tag 0,218 g als Zufuhr und Ausfuhr, und 4,68 g C in der Zufuhr aus Kohlenhydraten. Es war die Sauerstoffaufnahme 15,36 Liter und die CO₂-Abgabe 12,31 Liter. Der Proteinverbrauch war $0,218 \times 6,25 = 1,36$, diese brauchen 1,31 Liter O und geben 1,06 CO₂. Es bleiben demnach 14,05 Liter O, 11,25 Liter CO₂, Respirationsquotient also = 0,80, was einem Kalorienwert von 4,801 pro 1 Liter O entspricht.

Demnach wäre der Gesamtverbrauch:

an Eiweiß ($1,31 \times 4,6$) 6,03 kg/cal
 an N-freiem Material ($14,0 \times 4,80$) 57,44 „

Summe . 63,47 kg/cal pro Tag und Kilogramm

Die Stoffwechselaufrechnung ergibt folgendes:

CO₂-Abgabe pro 1 kg und Tag = 12,31 Liter

= 24,62 g × 27,27 = 6,71 g C

im Harn 0,218 N × 0,73 = 0,16 g C

Summe 6,87 g C

ab für Eiweiß 0,218 × 3,2 = 0,72 g C

6,15 g C

ab für Kohlenhydrate 4,68 g C

bleibt für Fett 1,47 g C

Somit haben wir Kilogrammkalorien:

aus Eiweiß 0,218 × 26 = 5,67

„ Fett 1,47 × 12,3 kg/cal = 18,08

„ Stärke 4,68 × 9,4 „ = 43,99

67,74 kg/cal pro Kilogramm bei 19°

Die Übereinstimmung zwischen der Berechnung und der Sauerstoffzehrung und der Stoffwechselgleichung ist also durchaus befriedigend. Das Tier war im Stickstoff- aber nicht im Kohlenstoffgleichgewicht, was für die vorliegende Frage nebensächlich ist.

In dem Versuche vor dem Schläfe habe ich berechnet pro Kilogramm 73,73 kg/cal und reduziert auf 15° 65,76 kg/cal, in diesem Versuche 67,7 kg/cal, oder aus der Sauerstoffzahl 63,50 kg/cal.

Da das Tier seit Beginn des Versuchs abgemagert war und im Hunger die Intensität des Stoffwechsels mit der Masse sich ändert, nicht mit der Oberfläche, würde das Mittel der drei Berechnungen gleich 65,7 kg/cal pro 15° und 1 kg zu beziehen sein auf die Anfangsoberfläche = 566 qcm pro 1 kg, pro 1 qm = 1160 kg/cal pro Tag.

Die Zahl für 19° wird nicht reduziert, weil anzunehmen ist, daß durch die spezifisch-dynamische Wirkung die chemische Wärmeregulation nahezu ausgeschaltet war.

Das Resultat lautet also wie folgt:

Die Wärmebildung bei dem Tiere von 10° Leibestemperatur pro 1 qm und Tag ist 47,5 Cal, bei annähernder Vollernährung bei 36,7° Leibestemperatur pro 1 qm 1160. Die Wärmebildung steigt für 26,7° von 100 auf 2448, d. h. um 2348 Proz., pro 1° um 8,792 Proz., und umgekehrt berechnet, sinkt die Wärmebildung bei der Abkühlung des Körpers von 36,7° auf 10° von 100 auf 4,097, d. h. um 95,9 Proz., d. h. 1° um 3,59 Proz.

Die Spannungen zwischen Minimum und Maximum sind etwas zu groß, weil bei 10° Schlaf, bei 36,7° Leibestemperatur der wache Zustand mit etwas Bewegungen sich gegenüberstehen.

Eine Umrechnung der Wärmeproduktion für die Leibestemperatur 16° zum Zwecke des Vergleichs mit den Kaltblütern würde pro Tag und Quadratmeter für das Murmeltier im Winterschlaf 72,52 kg/cal geben.

Dieser Wert fällt vollkommen innerhalb des Bereichs der Wärmebildung, die bei vielen Kaltblütern gefunden und von mir oben angegeben worden ist, und bestätigt ganz das, was ich früher schon unter vergleichender Benutzung von Warmblütern mit durchschnittlichem Mark gesagt hatte.

Der Übergang des Kaltblüters zum Warmblüter braucht in der Entwicklungsreihe nicht durch erhöhten Energieverbrauch zu erfolgen, er konnte einfach durch die Entwicklung einer neuen Regulation, der chemischen Wärmeregulation, zustande kommen und durch wärmeisolierende Hautbedeckung.

Durch die vorliegenden Untersuchungen sind, wie ich glaube, die wesentlichen Züge im Ernährungsprozeß bei den Kaltblütern dargelegt und neben den reinen Fragen der Ernährung auch noch andere biologische Probleme gestreift worden. Sind auch ab und zu nur Stichproben aus der Fülle der Erscheinungen genommen, so zeigt sich doch mit aller Bestimmtheit eine völlige Übereinstimmung der Grundzüge der Ernährung zu den Warmblütern.

Dabei habe ich nicht nur den Betriebsstoffwechsel, sondern vor allem auch die Wachstumsvorgänge in Betracht gezogen.

Als wichtigstes allgemeines Ergebnis kann man buchen die Aufklärung des Verlaufs des Wachstums hinsichtlich der Massenbildung und die Darlegung der Beziehungen der letzteren zum Energieverbrauch.

Die Oberfläche bleibt als regulierendes Prinzip nur für den Energieverbrauch des Warmblüters. Bei tiefer stehenden Tieren hat sich eine solche Beziehung nicht finden lassen, im Gegenteil, man kann sagen, die Oberfläche hat noch keine kausale Bedeutung für den Kraftwechsel. Das Protoplasma aller Tiere ist in seinen Leistungen gleichartig und wird nur durch die Massenbildung und der mit ihr verknüpften relativen Schwächung der Leistung beeinflusst. Fehlt die Rückwirkung der Oberfläche auf den Energieverbrauch im allgemeinen, d. h. die Analogie zum Warmblüter, so wird die Schwankung des Energieverbrauchs bei ein und derselben Spezies mit Zunahme der Masse der Oberfläche proportional gehen, auch da ohne kausalen Zusammenhang.

Die Welt der Kaltblüter ist von den Warmblütern nicht grundsätzlich geschieden, der Energieverbrauch bei Heterothermen kann sich so weit senken, daß er in den Leistungsbereich der Kaltblüter vollkommen hineinfällt.

Durch diese Untersuchungen finden meine früher erwähnten Anschauungen über die Entwicklung der Leistungsfähigkeit des lebenden Protoplasmas im Tierreich eine weitere wertvolle Stütze.

Zur Theorie der Meiostagminreaktion (M. R.) beim Carcinom.

Von

W. Weis-Ostborn und O. Ehrenthell.

(Aus der II. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 3. April 1924.)

I. Einleitung.

A. Literatur über das Wesen der Meiostagminreaktion.

Von den serologischen Methoden zur Erkennung des Carcinoms hat sich in der Klinik bisher am ehesten die Meiostagminreaktion von *Ascoli* und *Izar* bewährt.

Die Meiostagminreaktion wird so angestellt, daß 1 ccm Serum mit 19 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wird, 9 ccm dieses 20fach verdünnten Serums werden mit 1 ccm Aqua dest., weitere 9 ccm mit 1 ccm eines sogenannten Antigens versetzt. Diese beiden Portionen werden 1 Stunde lang im Brutofen stehen gelassen und dann die Oberflächenspannung beider Lösungen stalagmometrisch gemessen. Beim Carcinomserum besteht ein größerer Tropfenunterschied zwischen den beiden Zählungen (mit und ohne „Antigen“), als beim nicht carcinomatösen Serum.

Über das Wesen dieser Reaktion liegt bereits eine umfangreiche Literatur vor. Da in einigen neueren Arbeiten (*Izar*, *Nehemia Blumenthal*, *Micheli* und *Catoretti*) sich eine Zusammenstellung und ein sorgfältiges Referat über die bisherigen Arbeiten vorfindet, erübrigt es sich, hier neuerdings genau darauf einzugehen. Es seien im folgenden nur die wichtigsten Anschauungen über das Wesen der M. R. zitiert:

Man kann die bisherigen Theorien in folgende Gruppen einteilen: Das Wesen der M. R. liegt 1. in einer Antigen-Antikörperreaktion (die ursprünglich von *Ascoli* vertretene Meinung, die von ihm jedoch bald verlassen wurde); 2. in dem Auftreten von Abbauprodukten, die fermentativen Prozessen im Carcinomserum ihre Entstehung verdanken und die mit dem Antigen zusammengebracht eine oberflächenspannungsvermindernde Wirkung zustande bringen (*Kelling*, *Stammler*); 3. nicht im Auftreten neuer Substanzen oder im Freiwerden der vorher vorhandenen, sondern nur im

verminderten Gehalt an Substanzen, die die Fettsäuren oder die Lipoid-extrakte des betreffenden Antigens binden, welche Erscheinungen aber auch durch schon vorher eingetretene Sättigung dieser bindenden Substanzen bedingt sein könnte (*Izar*). *Izar* führt den positiven Ausfall der M. R. später auf einen erhöhten Gehalt an bestimmten Lipoiden, und zwar an Fettsäuren bzw. auf einen verminderten Gehalt oder eine Veränderung von fettsäurebindenden Substanzen (Cholesterin, Calciumchlorid) zurück. Nach seiner Auffassung besitzt daher ein Normalserum in erhöhtem Maße die Fähigkeit, die oberflächenspannungsvermindernden Substanzen des Antigens zu verhüllen als das Carcinomserum; 4. in denselben Faktoren wie in Punkt 3 mit dem Zusatz einer durch die Vermehrung der Lipoiden bedingten Änderung im physikalischen Zustande des Serums (*Micheli* und *Catoretti*); 5. in einer Veränderung der H- bzw. OH-Ionenkonzentration und Veränderung des Absorptions- bzw. Bindungsvermögens gegenüber Säuren und Basen. Diese Anschauung wurde von *N. Blumenthal* in Erwägung gezogen, jedoch durch seine eigenen Versuche widerlegt; 6. in einer physikalischen Zustandsänderung der positiv reagierenden Sera im Sinne der Haftlockerung des Milieus (*N. Blumenthal*).

In neuester Zeit berichtet *Farmer Loeb* in einer Arbeit über das Wesen der M. R., wonach dieses darin bestehen solle, daß ein Normalserum sich eher von dem Eingriff, der durch den Zusatz des oberflächenaktiven Antigens hervorgerufen wird, erholen könne, als ein Carcinomserum. Mit anderen Worten: Die M. R. sofort nach dem Zusatze des Antigens ausgeführt, gibt sowohl beim Normalserum, wie auch beim Carcinom ein positives Resultat. Wenn das Normalserum eine Stunde im Brutofen gestanden ist, wird es negativ, während das Carcinomserum positiv bleibt. Die Frage, weshalb die Wiederholung der sofort nach Antigenzusatz herabgesetzten Oberflächen-spannung beim pathologischen Serum nicht so weitgehend ist, wie beim Normalserum, möchte *Farmer Loeb* noch offen lassen; er vermutet, daß es sich um Änderungen des Dispersitätsgrades bzw. auch der Konzentration der Micellen des Serums handle.

Wie man bei Durchsicht der Literatur ersieht, ist man bisher zu einem abschließenden Urteil über das Wesen der M. R. nicht gekommen.

B. Ergebnisse unserer Arbeiten über die Saponinhämolyse.

Wir haben uns in früheren Arbeiten mit der Saponinhämolyse beschäftigt, weil wir hofften, auf diesem Wege der Erkenntnis über das Wesen der M. R., wie dies schon von *Köhler* und *Luger* seinerzeit versucht wurde, näher zu treten. Wir fanden dabei in Übereinstimmung mit *Port* und anderen einen Unterschied der antihämolytischen Kraft des Normalserums und Carcinomserums insofern, als diese beim Normalserum bedeutend stärker ist, als beim Carcinomserum. *Ransom* hatte das Cholesterin als antihämolytischen Stoff des Serums gegenüber der Saponinhämolyse nachgewiesen. Das Carcinomserum besitzt im allgemeinen einen bedeutend geringeren Cholesteringehalt als das Normalserum, woraus die schwächere antihämolytische Wirkung des ersteren gegenüber dem Saponin hervorgeht. Auch geht die anti-

hämolytische Kraft der Sera, wie aus unseren eigenen Untersuchungen und denen anderer hervorgeht, ihrem Cholesteringehalt im allgemeinen parallel. Nicht in Übereinstimmung und besonders auffallend war der Befund bei den Seris Schwangerer, die trotz erhöhten Cholesteringehaltes in ungefähr 20 Proz. der Fälle eine geringere antihämolytische Kraft aufwiesen als die Normalsera, sich also wenigstens in einem Teil der Fälle in carcinomatösem Sinne bewegten. Wir betonen besonders, daß wir die Cholesterinbestimmung damals vor allem bei jenen Schwangerschaftseris ausführten, die positive Saponinreaktion, d. h. geringe antihämolytische Kraft, ergaben, und daß wir auch bei diesen erhöhten Cholesteringehalt fanden. Wir versuchten dieses abnorme Verhalten der Sera Schwangerer durch andere molekulare Verteilung des Cholesterins im Eiweiß zu erklären, die so beschaffen war, als ob das Cholesterin, vom Eiweiß eingehüllt, nicht zu seiner antihämolytischen Wirkung kommen kann. Dieser Befund war uns deshalb wichtig, weil bei der M. R. unter den Fehlresultaten die Schwangerschaft in erster Linie in Betracht kommt. Es besteht also auffallenderweise bis zu einem gewissen Grade ein gleichsinniges Verhalten zwischen der Hemmung der Saponinhämolyse durch Serum und der M. R. Besonders auffallend ist dieser Befund auch deshalb, weil auch bei anderen bisher beschriebenen Carcinomreaktionen (antitryptisches Vermögen — *Thaler, Salvare* —, Vermehrung des polypeptischen Stickstoffes — *Falk, Hesky* —, positive Freund-Kaminersche Reaktion — *Kraus, v. Graff* —, positive Calmettesche Reaktion — *Kraus, v. Graff* und *Ranzi*), ein gleichsinniges serologisches Verhalten des Carcinoms und der Schwangerschaft beobachtet wurde. Wir waren damals auch imstande, an synthetischen Modellen die Herabsetzung der antihämolytischen Cholesterinwirkung gegenüber der Saponinhämolyse durch die Anwesenheit von Eiweiß, aber ebenso bei Gegenwart von *Mastix*, Stärkelösung und anderen kolloidalen Substanzen zu zeigen. Es lag also nahe, die gefundenen Resultate für die M. R. zu verwerten, und dies war die Aufgabe, die wir uns in der vorliegenden Arbeit stellten.

II. Synthetische Versuche.

A. Literatur.

Izar hat gezeigt, daß durch Zusatz von Cholesterinaufschwemmung zu Carcinomserum dieses seine positive Reaktion verliert. *Micheli* und *Catoretto* zeigten, daß durch Ätherausschüttelung ein negatives Normalserum in ein positives verwandelt werden kann. *Catoretto* wies nach, daß der Zusatz von Antigen zum Blutserum von beider Nebennieren gleichzeitig beraubten Ratten eine viel stärkere Verminderung der Oberflächenspannung bewirkt im Vergleich zu den bei nicht operierten Ratten (Nebenniere vielleicht Bildungsstätte, jedenfalls wichtigstes Depot des Cholesterins, daher bei Entfernung der Nebenniere Versagen der Cholesterinquelle und auf diese Weise vielleicht das Zustandekommen eines großen Ausschlages bei den

operierten Ratten); im Gegensatz zu den Versuchen *Izars* fand *Blumenthal* bei Zusatz von 0,65 g trockenen Cholesterins zu 1 ccm Serum eine Zunahme der positiven Reaktion.

An dieser Stelle müssen auch einige Arbeiten besprochen werden, die sich nicht direkt mit der M. R. beschäftigen, sondern allgemein über stalagmometrische Untersuchungen berichten. *Berczeller* konnte zeigen, daß Natriumoleat bei Gegenwart von Eiweiß- und Stärkelösungen die Oberflächenspannung des Wassers weniger vermindert, als in reinem destillierten Wasser. *H. Freundlich* (Kapillarchemie, 2. Aufl., 1922, S. 793) führt diese von *Berczeller* beobachteten Erscheinungen auf Adsorption der kapillaraktiven Stoffe durch die Kolloidteilchen zurück. *Isovesco* (zitiert nach *Berczeller*) findet, daß durch Seifenlösungen die Oberflächenspannung einer Cholesterinlösung nicht so stark herabgesetzt wird, wie die des destillierten Wassers. *Berczeller* findet minimale Erhöhung der Oberflächenspannung von Seifenlösungen bei Zusatz von Cholesterinlösungen. Viel eklatanter ist diese Oberflächenspannungserhöhung bei Zusatz minimaler Mengen Lauge zu der Cholesterinseifenlösung, obwohl bekanntlich durch Zugabe von Lauge die Oberflächenspannung der Seifenlösungen kleiner wird. Vergrößert man den Zusatz von Lauge, so wird auch hier die Oberflächenspannung der Lösung vermindert; nur sehr minimale Mengen von Lauge erhöhen die Oberflächenspannung. Den Seifenlösungen ähnlich verhalten sich auch Lecithinlösungen: Die Oberflächenspannung des Lecithins wird durch Zusatz von Lauge stark herabgesetzt. Bei Anwesenheit von Cholesterin jedoch übt der Zusatz von Lauge zum Lecithin eine wenn auch geringgradige oberflächenspannungserhöhende Wirkung aus. Diese Beobachtung können wir aus eigenen Versuchen bestätigen.

B. Eigene synthetische Versuche.

Wir gingen bei unserer Arbeit anders vor als die bisherigen Autoren, indem wir, die analytische Methode verlassend, durch einfache Versuchsanordnungen auf synthetischem Wege den Einfluß der einzelnen Faktoren der M. R. studieren wollten. Erst später ergänzten wir die gefundenen Resultate durch analytische Versuche und glaubten zu übereinstimmenden Resultaten der beiden Versuchsanordnungen gekommen zu sein.

a) *Technik.* Zu unseren Versuchen verwendeten wir reinstes, aus Gallensteinen bereitetes kristallisiertes Cholesterin, das uns bei allen unseren Arbeiten in freundlicher Weise von Dr. *Ulrich Strasser* zur Verfügung gestellt wurde, ferner Albumin der Firma Merck, aus Pferdeserum dialysiertes Globulin, als Antigen Acetonextrakt aus Lecithin der Firma Richter, in der von *Köhler* und *Luger* angegebenen Weise bereitet. Daß wir in unseren Versuchen ausschließlich das *Köhler-Lugersche* Antigen und nicht die Linolsäure—Ricinolsäure, wie sie von den meisten Autoren gebraucht wird, verwendeten, hat seinen Grund darin, daß an unserer Klinik seit mehreren Jahren die Aceton-Lecithinextrakte mit gutem Erfolge verwendet wurden. Wir wollten ferner nicht durch Einführung eines neuen Antigens Zeit für die Erprobung desselben verlieren, da es uns ja lediglich auf das Wesen der M. R. ankommt. Infolge der aus der Literatur entnommenen Überzeugung, daß man sowohl mit dem *Köhler-Lugerschen* Aceton-Lecithin, als auch mit der chemisch gut definierten Linol-Ricinolsäure die M. R. ausführen

kann, haben wir von vornherein die Ansicht vertreten, daß das Antigen nur ein Indikator für die im Serum selbst liegenden Verhältnisse ist. Das kristallisierte Cholesterin wurde gewogen, in Äther und Aceton *ana partes* gelöst und tropfenweise zu warmer physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt; das Äther-Acetongemisch hernach aus der Kochsalzlösung entweder durch Sauerstoffdurchleitung oder durch Stehenlassen in flachen Gefäßen vertrieben. Diese trübe Suspension wurde bei den Versuchen verwendet.

Das Albumin und Globulin wurde in physiologischer Kochsalzlösung im Brutofen bei 37° gelöst, hierauf filtriert und dann auf refraktometrischem Wege die Eiweißkonzentration der Lösung bestimmt.

Das Aceton-Lecithin (A. L.) wurde in der von Köhler und Luger angegebenen Weise bereitet, indem Lecithin mit Aceton eine halbe Stunde verrieben und für 24 Stunden in den Brutofen gestellt, hierauf durch ein Schleicher-Schüllfilter Nr. 90 filtriert wurde. Diese braungefärbte Flüssigkeit wurde in verschiedenen Verdünnungen erprobt. Für die gewöhnliche M. R. war die gewünschte Verdünnung in diesem Falle 1:80. Bei den synthetischen Versuchen verwendeten wir das A. L. in verschiedenen Konzentrationen. Die in den einzelnen Versuchen angewendeten Konzentrationen und Flüssigkeitsmengen sind bei jedem Versuche angegeben.

Es wurden nun systematisch die hauptsächlichsten Bestandteile des Serums sowohl für sich allein als auch in verschiedenen Kombinationen mit und ohne Aceton-Lecithinzusatz stalagmometrisch untersucht. Wir verwendeten das Stalagmometer von Traube, das bei Durchleitung von Aqua dest. eine Tropfenzahl von 59,9 Tropfen anzeigt.

β) *Vorversuche.* Die Versuchsprotokolle unserer zahlreichen Vorversuche, in denen wir die Tropfenzahl der verschiedenen Konzentrationen von Eiweiß, Cholesterin, Aceton-Lecithin usw. untersuchten, veröffentlichten wir aus Raummangel nicht, da ja diese Verhältnisse aus den Kontrollen unserer kombinierten Versuche ersichtlich sind. Das Ergebnis dieser Versuche war: Je höher die Konzentration des Cholesterins, Eiweiß oder Aceton-Lecithins ist, desto größer resultiert die Tropfenzahl, wie ja nicht anders zu erwarten war.

γ) *Kombinierte Versuche.* Wie aus der Tabelle I ersichtlich ist (wagerechte Kolonne E) steigt die Tropfenzahl mit ansteigender Konzentration des Cholesterins und (senkrechte Kolonne 5) mit der des A. L. Die anderen Zählungen ergeben ungefähr eine Summierung der Wirkungen.

Tabelle I.

Tropfenzahlen von Mischungen verschiedener Mengen einer 1prm. Cholesterinsuspension (in physiologischer Kochsalzlösung) mit verschiedenen Konzentrationen Aceton-Lecithin (A. L.). Sämtliche Eprouvetten mit physiologischer NaCl-Lösung auf 10 ccm aufgefüllt. Einstündiger Aufenthalt im Brutofen (37°).

		1	2	3	4	5
		Cholesterinsuspension				
		4 ccm	2 ccm	1 ccm	$\frac{1}{2}$ ccm	0 ccm
A.	1 ccm A. L. $\frac{1}{10}$. . .	70 + 12	70 + 5	68 + 9	68 + 2	66 + 1
B.	1 ccm A. L. $\frac{1}{20}$. . .	66 + 0	65 + 4	63 + 12	63 + 7	63 + 4
C.	1 ccm A. L. $\frac{1}{40}$. . .	—	63 + 3	—	62 + 1	61 + 16
D.	1 ccm A. L. $\frac{1}{80}$. . .	—	62	—	61 + 10	61 + 2
E.	1 ccm Aqua dest. . .	62 + 2	61 + 3	60 + 11	60 + 4	60 + 0

Tabelle II.

Tropfenzahlen verschiedener Konzentrationen Albuminlösung mit verschiedenen Konzentrationen Aceton-Lecithin (A. L.). Die Albuminlösung wurde folgendermaßen bereitet: 1 g Albumin (*Merck*) wurde zu 19 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt, 1 Stunde im Brutofen stehen gelassen und dann filtriert. Die refraktometrische Bestimmung ergab einen Eiweißgehalt von 3,3 Proz. Sämtliche Epruvetten wurden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt und für 1 Stunde in den Brutofen (37°) gestellt.

	1	2	3	4	5
	1 ccm A. L. $\frac{1}{10}$	1 ccm A. L. $\frac{1}{20}$	1 ccm A. L. $\frac{1}{40}$	1 ccm A. L. $\frac{1}{80}$	1 ccm Aqua dest.
A. 4 ccm Eiweißlösung .	74 + 9	—	—	—	63 + 17
B. 2 ccm " .	74 + 15	70 + 12	67 + 9	65 + 0	63 + 0
C. $1\frac{1}{2}$ ccm " .	—	70 + 10	—	—	62 + 4
D. 1 ccm " .	75 + 3	69 + 13	66 + 8	64 + 14	62 + 0
E. 0,75 ccm " .	—	70 + 17	—	—	61 + 12
F. 1 ccm 1:2 verdünnter Eiweißlösung . . .	74 + 15	70 + 13	66 + 9	63 + 12	61 + 2
G. 1 ccm 1:4 verdünnter Eiweißlösung . . .	—	68 + 14	65 + 6	62 + 9	60 + 17
H. 1 ccm 1:8 verdünnter Eiweißlösung . . .	—	68 + 12	63 + 15	62 + 2	60 + 13
J. 1 ccm physiol. NaCl- Lösung	68 + 10	63 + 14	62 + 11	61 + 12	60 + 0

In Übereinstimmung mit dem vorigen Versuch zeigt die Antigenkontrolle (wagerechte Kolonne J) ein Ansteigen der Tropfenzahl mit zunehmender Konzentration, wie es nach den bisherigen Untersuchungen zu erwarten war. Ebenso ersieht man aus der senkrechten Kolonne 5 die Erhöhung der Tropfenzahl mit Anstieg der Eiweißkonzentration. Ein sehr auffallender Befund dagegen ergibt sich in den senkrechten Reihen 1, 2 und 3. Es zeigt sich nämlich, daß in diesen Reihen mit Anstieg der Eiweißkonzentration die Tropfenanzahl nicht einfach zunimmt, sondern nach Erreichung eines Höhepunktes abfällt und dann erst wieder zunimmt. Es würde sich also z. B. die Reihe 2 in graphischer Darstellung so repräsentieren, daß wir nach anfänglichem Anstieg der Linie einen kurz dauernden Abfall

Tabelle III.

Tropfenzahlen verschiedener Konzentrationen Stärkelösung mit verschiedenen Konzentrationen Aceton-Lecithin (A. L.). Die Stärkelösung war 1,5 Proz. Sämtliche Epruvetten wurden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt und für 1 Stunde in den Brutofen (37°) gestellt.

	1	2	3	4
	1 ccm A. L. $\frac{1}{20}$	1 ccm A. L. $\frac{1}{40}$	1 ccm A. L. $\frac{1}{80}$	1 ccm Aqua dest.
A. 4 ccm 1,5 proz. Stärkelösung .	65 + 8	62 + 0	60 + 19	60 + 0
B. 2 ccm " " .	64 + 10	61 + 16	60 + 16	60 + 0
C. 1 ccm " " .	64 + 8	62 + 0	61 + 3	60 + 0
D. 0 ccm Stärke	68 + 17	63 + 3	61 + 4	59 + 18

und dann wieder einen Anstieg zu verzeichnen hätten. Oder mit anderen Worten: Die Einzelwirkungen des Eiweiß und des A. L. summieren sich nicht, sondern hemmen einander in gewissen Konzentrationen. Diese Erscheinung ist wohl am ehesten als Einhüllung des A. L. durch das Eiweiß zu erklären. Für diese Erklärung sprechen auch die Befunde von Stärkelösung und A. L., die im folgenden reproduziert werden mögen.

Das Ergebnis dieses Versuches ist ähnlich dem des Eiweiß-A. L.-Versuches. Bei Betrachtung der verschiedenen Konzentrationen reiner Stärkelösung sieht man fast überhaupt keinen Einfluß auf die Oberflächenspannung (Kolonne 4). Dagegen ist in allen anderen Kolonnen der deutliche Einfluß der Stärke auf das A. L. zu bemerken. Die Herabsetzung der oberflächenspannungsniedrigenden Wirkung des A. L. durch die Stärke beträgt z. B. in der Kolonne 1 mehr als 4 Tropfen.

Durch den Stärke-A. L.-Versuch ist erwiesen, daß es sich im Versuch Tabelle II nicht um eine spezifische Eiweißwirkung, sondern um einen physikalisch-chemischen Vorgang handelt.

Tabelle IV.

Tropfenzahlen verschiedener Konzentrationen Albumin mit verschiedenen Konzentrationen Cholesterin (gleichzeitig Kontrollversuch zum folgenden Versuch). Die Albuminlösung wurde ebenso bereitet wie im Versuch Tabelle II. Die refraktometrische Eiweißbestimmung ergab einen Wert von 4,5 Proz. Die verwendete Cholesterinsuspension war 0,2 Proz. In sämtliche Eprouvetten kam 1 ccm Aqua dest.; nach Zusatz des Albumins und Cholesterins wurden sämtliche Eprouvetten mit physiologischer Kochsalzlösung auf 10 ccm aufgefüllt und für 1 Stunde in den Brutofen (37°) gestellt.

	1	2	3	4	5
	Cholesterinsuspension				
	7 ccm	5 ccm	3 ccm	1 ccm	0 ccm
A. 4 ccm Albuminlösung	—	63 + 13	63 + 7	63 + 3	62 + 12
B. 2 ccm "	62 + 19	62 + 11	62 + 5	62 + 0	61 + 7
C. 1 ccm "	62 + 10	61 + 17	61 + 9	60 + 19	60 + 14
D. 1 ccm 1:2 verdünnter Albuminlösung . .	61 + 13	61 + 5	61 + 0	60 + 13	60 + 8
E. 1 ccm 1:4 verdünnter Albuminlösung . .	61 + 7	61 + 0	60 + 16	60 + 8	60 + 3
F. 0 ccm Albuminlösung	61 + 2	60 + 16	60 + 10	60 + 6	60 + 1

Wie man aus obigem Versuch ersieht, ist keinerlei Aufhebung der Einzelwirkung zu beobachten. Dieser Versuch ist gleichzeitig ein Kontrollversuch zu der folgenden Tabelle, in der jedoch statt 1 ccm Aqua dest. in jede Eprouvette Aceton-Lecithin 1:20 zugesetzt wurde.

Wir sehen bei der Betrachtung der Kolonne 5 der Tabelle V in Übereinstimmung mit Tabelle II den Anstieg, Abfall und neuerlichen Anstieg der Tropfenzahl. Auch in allen anderen senkrechten Kolonnen ist das gleiche Verhalten zu bemerken. Sehr bemerkenswert ist auch der Befund bei Betrachtung der wagerechten Reihen. Während in Tabelle I ersichtlich ist, daß das Cholesterin auf A. L. allein nicht im Sinne einer Verhüllung der Wirkung Einfluß nimmt und das gleiche Verhalten aus Tabelle IV

Tabelle V.

Tropfenzahlen verschiedener Konzentrationen Albumin mit verschiedenen Konzentrationen Cholesterin bei Anwesenheit von Aceton-Lecithin. Dieselben Lösungen und dieselbe Versuchsanordnung wie in Tabelle IV, nur wurde das 1 ccm Aqua dest. durch 1 ccm Aceton-Lecithin (A. L.) 1:20 ersetzt.

	1	2	3	4	5
	Cholesterinsuspension				
	7 ccm	5 ccm	3 ccm	1 ccm	0 ccm
A. 4 ccm Albuminlösung	—	70 + 14	70 + 2	69 + 14	69 + 7
B. 2 ccm „	69 + 3	68 + 16	68 + 13	68 + 14	68 + 12
C. 1 ccm „	69 + 4	69 + 6	69 + 4	68 + 15	69 + 3
D. 1 ccm 1:2 verdünnter Albuminlösung . .	69 + 6	69 + 5	68 + 12	68 + 9	69 + 13
E. 1 ccm 1:4 verdünnter Albuminlösung . .	69 + 4	68 + 16	68 + 9	67 + 4	67 + 14
F. 0 ccm Albuminlösung	64 + 12	64 + 1	63 + 12	63 + 5	63 + 9

bezüglich Albumin und Cholesterin hervorgeht, ersehen wir aus Tabelle V, daß bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eiweiß und A. L. in einer bestimmten Breite der Konzentrationen die stärkere Konzentration des Cholesterins mit einer Erhöhung der Oberflächenspannung, d. h. erniedrigter Tropfenzahl, einhergeht (siehe z. B. wagerechte Kolonne D). Auch bei Betrachtung dieser wagerechten Reihen müßten wir den Befund graphisch mit einer ähnlichen Kurve einzeichnen, wie wir es schon oben bei der Betrachtung der Einwirkung von Eiweiß auf A. L. getan haben. Es ist bemerkenswert, daß diese Cholesterinwirkung auch nur gerade in jenen Konzentrationen der anderen zugesetzten Substanzen auftritt, die auch bei Betrachtung der senkrechten Reihen eine gegenseitige Hemmung zeigen.

Wir machten nun auch Versuche mit dialysiertem Globulin, die ein der Wirkung des Albumins analoges Verhalten des Globulins zeigen. Es war also erstens das Globulin imstande, die A. L.-Wirkung abzuschwächen. Zweitens wurde bei gleichzeitiger Anwesenheit von dialysiertem Globulin und Aceton-Lecithin bei Zusatz von Cholesterin noch stärker als dies in Tabelle V zum Ausdruck kommt, die Oberflächenspannung erhöht.

Versuche, in denen wir Stärke in Kombination mit A. L. und Cholesterin erprobt haben, ergaben nur die bereits erwähnte und in Tabelle III dargestellte Aufhebung der Aceton-Lecithinwirkung; dagegen war die bei Anwesenheit von Eiweiß und A. L. und Variation der Cholesterinkonzentration oben beschriebene Kurve, falls wir das Eiweiß durch Stärke ersetzen, nicht zu sehen.

δ) Versuch der synthetischen Nachahmung der Serumverhältnisse. Nachdem wir also in dieser Weise einen Überblick über das Verhalten von Eiweiß, Cholesterin und Antigen in verschiedenen Konzentrationen und verschiedenen Kombinationen erhalten haben, so mußten wir zu erforschen trachten, ob das Verhältnis der Konzentrationen der verschiedenen Substanzen im Serum ein derartiges ist, daß es zu den oben beobachteten Verschleierungen der A. L.-Wirkung kommen kann.

Tabelle VI.

Eiweiß und Cholesterin in den Serumkonzentrationen mit und ohne Aceton-Lecithin. In jeder Eprouvette befinden sich 8 ccm $\frac{1}{2}$ proz. Albuminlösung.

	1	2	3	4	5
	Cholesterinsuspension				Physiol. Kochsalzlösung
	1 proz. 1 ccm	0,1 proz. 1 ccm	0,01 proz. 1 ccm	0,001 proz. 1 ccm	1 ccm
A. 1 ccm Aqua dest. . .	63 + 14	63 + 0	62 + 8	62 + 3	62 + 2
B. 1 ccm A. L. ^{1/80} . . .	64 + 8	64 + 18	65 + 10	65 + 12	64 + 8

Es sei daran erinnert, daß bei der Meistagminreaktion 1 ccm Serum zu 19 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt wird und hiervon 9 ccm mit 1 ccm Aqua dest., weitere 9 ccm mit 1 ccm A. L. versetzt werden und diese beiden Portionen stalagmometriert werden. Es enthalten also die 10 ccm Flüssigkeit, die bei Ausführung der M. R. durch das Stalagmometer geschickt werden, einen halben Kubikzentimeter Serum.

In diesem Versuche entspricht die Eprouvette 5 ungefähr den Serumverhältnissen des Normalserums, wobei wir allerdings einfach eine der Gesamteiweißmenge des Serums entsprechende Menge Albumin verwendet haben. Vergleicht man den Unterschied in der Tropfenmenge zwischen Eprouvette 2A und 2B, so ergibt sich ein Unterschied von 1 Tropfen + 18 Teilstreichen, während zwischen der Eprouvette 3A und 3B, die in dieser Versuchsreihe die nächst niedrige an Cholesteringehalt ist (allerdings noch bedeutend weniger Cholesterin enthält als das Carcinomserum), der Tropfenunterschied 3 Tropfen + 2 Teilstriche beträgt. Wir glauben in diesem kleinen Versuch direkt ein Modell der Verhältnisse bei der M. R. geschaffen zu haben.

Zusammenfassung der synthetischen Versuche.

Fassen wir das bisherige Ergebnis unserer Versuche in kurzen Worten zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Verschiedene Eiweiß-, Cholesterin- und Aceton-Lecithin- (A. L.-) Konzentrationen zeigen für sich allein eine Erhöhung der Tropfenzahl entsprechend der höheren Konzentration.

2. Eiweiß-Cholesteringemische zeigen keinerlei Aufhebung der Einzelwirkung.

3. Eiweiß-A. L.-Gemische hemmen einander in bestimmten Konzentrationen in ihrer oberflächenspannungsniedrigenden Wirkung, ebenso Stärke-A. L.-Gemische.

4. Cholesterin scheint bei Anwesenheit von A. L. allein die Wirkung des letzteren nicht hemmen zu können. Die geringfügige Differenz von vier Teilstreichen, die man bei Betrachtung der Tabelle V in Eprouvette A1 und Eprouvette A2 beobachtet, hat sich in den übrigen Versuchen nicht gezeigt und liegt innerhalb der Fehlergrenzen.

5. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eiweiß vermag Cholesterin die Antigenwirkung deutlich abzuschwächen. Dies ist nur bei bestimmten Konzentrationen der Fall, die auch im menschlichen Serum

vorhanden sein dürften. In diesem Versuche kann Stärke das Eiweiß nicht vertreten.

III. Cholesteringehalt der Sera und Ausfall der Meistagminreaktion.

Es ist seit langem bekannt, daß die Carcinomsera im allgemeinen einen bedeutend niedrigeren Cholesterinspiegel aufweisen, als die Sera Gesunder, und es wäre daher naheliegend, das Wesen der M. R. auf den verminderten Cholesteringehalt der Carcinomsera zurückzuführen.

Es sei an dieser Stelle daran erinnert, daß *Izar* nachgewiesen hat, daß ein Carcinomserum durch Zusatz von Cholesterinemulsion die positive Reaktion verliert und umgekehrt durch Ätherausschüttelung und Entfernung des Cholesterins ein Normalserum positiv reagiert. Diese Versuche wurden von uns nachgeprüft, und wir können die Befunde *Izars* in dieser Beziehung bestätigen. Daß *N. Blumenthal* durch Cholesterinzusatz andere Resultate erhielt, ist, wie wir uns durch eigene Versuche, in denen wir der Versuchstechnik *Blumenthals* folgten, überzeugen konnten, dadurch zu erklären, daß er 0,65 g Cholesterin zu 1 cem Serum zusetzt, also eine viel zu große Menge, und dadurch jenen Bezirk in der von uns gefundenen Kurve überspringt, in welchem Cholesterinzusatz im Sinne der Zunahme der Oberflächenspannung = Abnahme der Tropfenzahl reagiert.

Betrachten wir nun die Krankheitsbilder und physiologischen Zustände, bei denen die M. R. einen positiven Ausschlag gibt. Es sind dies nach den Angaben der Literatur (*Izar*, *N. Blumenthal*, *Micheli* und *Catoretti* und viele andere) außer beim Carcinom vor allem folgende Fälle:

Die atrophische Lebercirrhose (*Micheli* und *Catoretti*), die croupöse Pneumonie vom dritten Tage der Krankheit angefangen bis 7 Tage nach der Krisis (*Micheli* und *Catoretti* und *Blumenthal*), einige komatöse Zustände (*Blumenthal*), Diabetes, Basedow (*Tedesco*), Schwangerschaft (*Micheli* und *Julchiero*, *Blumenthal*, *Köhler* und *Luger*, *Rosenberg*), Urämie (*Rosenberg*, *Blumenthal*), verschiedene fieberhafte Erkrankungen (*Stammmler*, *Blumenthal*), schwere Lungentuberkulose (*Rosenberg*), manchmal Lues (*Stammmler*, *Blumenthal*), lipämische Sera (*Zarzycki*), Nephritis (*Ferrari* und *Urizio*), nicht carcinomatöse Kachexie (*Kelling*), Phosphorvergiftung (*Micheli* und *Catoretti*), ferner verschiedene experimentelle Vergiftungen, wie Phosphor, Phloridzin, Oleum Pulegi (*Catoretti*), endlich chronische Knochengelenkentzündungen (*Blumenthal*).

Wenn wir wiederum nach den Angaben der Literatur den Cholesteringehalt dieser Krankheitsbilder betrachten, so ergibt sich folgendes: Atrophische Lebercirrhose hat nach *Jedlička* einen erniedrigten Cholesteringehalt, Pneumonie erniedrigt nach *Kipp*, *Leopold* und *Bogendörfer*, Diabetes erhöht nach *Jedlička*, *Irene Barát*, Basedow (*Jedlička*), Schwangerschaft erhöht nach *M. Huffmann*, *Ehrenthel* und *Weis-Ostborn*, Urämie erniedrigt nach *Malerba*, verschiedene fieberhafte Erkrankungen erniedrigen nach *Kipp*, *Leopold* und *Bogendörfer*, *Malerba*, *Chauffard*, *Laroche* und *Grigaut*, Lues manchmal erhöht nach *Barát*, erhöht nach *Jedlička*, akute Nephritis erniedrigt nach *Jedlička*, normal nach *Malerba*, chronische Nephritis manchmal erhöht nach *Chauffard*. Keine Belege bei Phosphorvergiftung, verschiedenen experimentellen Vergiftungen und lipämischen Seris. Vergleicht man die Resultate dieser beiden Zusammenstellungen, so ergibt sich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle einer Erniedrigung des Cholesteringehaltes bei denjenigen Erkrankungen, bei denen positive M. R. festgestellt wurde.

Nicht übereinstimmend sind die Resultate bei Diabetes, Basedow und manchmal bei Lues. Über den positiven Ausgang der M. R. bei Basedow liegt nur eine einzige Angabe vor, bei Lues III, wo die Reaktion nur in wenigen Fällen positiv ist, andererseits der Cholesteringehalt des Serums ebenfalls zu schwanken scheint, müßte erst eine systematische Untersuchung des Cholesteringehaltes bei M. R. positiven Luesfällen erfolgen. Beim Diabetes könnte vielleicht die gleichzeitig bestehende Acidosis für den positiven Ausschlag maßgebend sein. Auf den Befund bei der Gravidität soll noch genauer eingegangen werden. Nochmals zusammengefaßt, ergibt sich mit Ausnahme bei Diabetes und der Gravidität eine Übereinstimmung des positiven Ausfalles der M. R. mit der Erniedrigung des Cholesteringehaltes im Serum.

IV. Eigene analytische Versuche.

Wie schon oben erwähnt wurde, war das Verhalten des Schwangerschaftsserums gegenüber der Saponinhämolyse, das wir in früheren Arbeiten untersucht hatten, deswegen auffallend, weil das Schwangerschaftsserum in 20 Proz. der Fälle trotz erhöhten Cholesteringehaltes die Saponinhämolyse weniger hemmt als das Normalserum. Diese Untersuchungen machten ein Einhüllungsvermögen des Eiweißes gegenüber dem Cholesterin wahrscheinlich. Unser Bestreben war daher im folgenden besonders darauf gerichtet, die Verhältnisse im Serum Schwangerer klarzulegen. Wir mußten zu diesem Zwecke von unserer bisherigen Untersuchungstechnik abgehen und uns analytischen Versuchen zuwenden. Zweck dieser Untersuchungen war das Verhalten der einzelnen Komponenten des Serums, soweit diese mit den üblichen Trennungsmethoden darstellbar sind, mit Hilfe der M. R. zu prüfen. Wir bedienten uns zu diesem Zwecke vor allem der Ätherausschüttelung und gingen dabei kurz folgendermaßen vor:

Die Sera wurden zehnfach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, fünfmal 10 Minuten mit immer wieder erneutem Äther geschüttelt. Aus den beiden Fraktionen, die beim Abgießen aus dem Schütteltrichter sorgfältig getrennt werden müssen, wurde der Äther verdunsten gelassen. Das ausgefällte Lipoid wurde neuerdings in etwas Äther aufgelöst und dieser in physiologische Kochsalzlösung getropft, aus welcher dann der Äther vertrieben wurde. So wurde einerseits entlipoidetes Serum, andererseits Lipoidaufschwemmung gewonnen und hernach die Meistagminreaktion in verschiedenen Kombinationen angestellt. Wir untersuchten 1. das native Serum, 2. das ausgeschüttelte Serum, 3. die aus dem zur Ausschüttelung gebrauchten Äther gewonnene Lipoidaufschwemmung und 4. die Wiedervereinigung der ausgeschüttelten Sera mit ihrem Lipoid.

Hierbei ergab sich folgendes: Konform den Untersuchungen von *Micheli* und *Catoretti* und *Izar* reagierten sämtliche entlipoideten Sera M. R. positiv, eine Tatsache, die durch den Wegfall des bei Anwesenheit von Eiweiß die Antigenwirkung herabsetzenden Cholesterins ohne weiteres zu erklären ist (siehe die synthetischen Versuche). Hier reagierten sowohl Normalserum wie Carcinomserum und Schwanger-

schaftsserum gleichsinnig. Ebenso reagierten die Lipoidaufschwemmungen sämtlicher Sera gleichsinnig im positiven Sinne, d. h. es wurde nirgends die Antigenwirkung verhüllt, ein Befund, der insofern zu beachten ist, als man gerade hier, wo die Lipide allein zur Wirkung kommen, deren oberflächenspannungsverhüllende Wirkung, d. h. eine negative M. R. hätte erwarten sollen. Diesen Befund können wir jedoch durch unsere eingangs erwähnten Vorversuche stützen. Dort konnten wir zeigen, daß das Cholesterin allein nicht imstande ist, die oberflächenspannungsherabsetzende Wirkung des A. L. zu schwächen, d. h. die Tropfenzahl des A. L. zu verringern, sondern daß es hierzu vielmehr der Anwesenheit von Eiweiß in bestimmten Konzentrationen, wie aus Tabelle V ersichtlich ist, bedarf. Wenn wir nun im Lipoidextrakt eine positive M. R. sehen, so ist dieselbe wohl auf Mangel an Eiweiß im Lipoidextrakt zurückzuführen, weshalb die Lipoidfraktion gegenüber dem Antigen ihre oberflächenspannungsherabsetzende Wirkung nicht entfalten kann. Sehr interessant sind die Befunde nach Wiedervereinigung dieser beiden Fraktionen. Wir konnten schon anlässlich unseres Studiums über das Verhalten dieser Fraktionen gegenüber der Saponinhämolyse zeigen, daß der Lipoidextrakt bei der Schwangerschaft die Saponinhämolyse gemäß seinem erhöhten Cholesteringehalt stärker hemmt als der Lipoidextrakt eines Normal- oder Carcinomserums. Es ist dies deshalb erwähnenswert, weil die Saponinhämolyse bei Zusatz von Schwangerschaftsserum trotz erhöhten Cholesteringehaltes desselben in 20 Proz. der Fälle rascher vor sich geht, als bei Zusatz von Normalserum. Es gelang uns damals ferner, nachzuweisen, daß nach Wiedervereinigung der beiden getrennten Fraktionen die beiden Schwangerschaftsfraktionen im Gegensatz zum nicht getrennten Schwangerschaftsserum die Saponinhämolyse stärker hemmten als die beiden Fraktionen eines Normal- oder Carcinomserums. Wir konnten also bei der Saponinhämolyse eine Umkehrung der Reaktion bei den positiv reagierenden Schwangerschaftsseris feststellen, während alle übrigen Sera nach Wiedervereinigung ihrer beiden Fraktionen gleichsinnig reagierten. Auf Grund dessen versuchten wir nun die damals gewonnene Erfahrung auf die M. R. zu übertragen. Nach unseren Beobachtungen, die wir bei der Saponinhämolyse gemacht haben, waren wir der Ansicht, daß die Schwangerschaft bei der M. R. deshalb positiv reagiere, weil das Eiweiß der Schwangerschaft imstande sei, die Cholesterinwirkung im Schwangerschaftsserum derart abzuschwächen, daß sich das Schwangerschaftsserum bei der M. R. wie ein cholesterinarmes Serum verhält. Um den Nachweis für diese Annahme zu erbringen, mußte das kolloidale Eiweißlipoidsystem des Serums gestört werden, um die volle Cholesterinwirkung des Schwangerschaftsserums wieder herzustellen. Dies gelang durch die Ätherausschütte-

lungsversuche, und zwar bei der Wiedervereinigung der getrennten Fraktionen (siehe Tabelle X). Einer dieser Versuche sei als Paradigma genau besprochen.

Tabelle VII.

Normaler Meiestagminversuch.

	Ohne A. L.	Mit A. L.	Tropfenunterschied
Aorteninsuffizienz = N.-S.	61 + 3	62 + 6	1 + 3
Schwangerschaft = Schw.-S.	61 + 17	63 + 12	1 + 17
Carcinoma ventriculi = Ca.-S.	61 + 10	63 + 10	2 + 0

Wir sehen den größten Tropfenunterschied beim Ca-Serum, den kleinsten beim N.-S., während das Schwangerschaftsserum (Schw.-S.) ungefähr in der Mitte ist.

Bei dem Ätherausschüttelungsversuche wurden 3 ccm eines jeden Serums mit 27 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt und fünfmal 10 Minuten lang mit immer wieder erneutem Äther ausgeschüttelt und der sich oben absetzende Äther von dem verdünnten Serum getrennt. Die Menge des erhaltenen ausgeschüttelten Serums wurde in Meßkolben gemessen und hierauf dieses in flache Gefäße geschüttelt und 20 Stunden offen stehengelassen, so daß der Äther verdunstete. War kein Äthergeruch mehr wahrnehmbar, so wurde die Menge der Flüssigkeit neuerdings gemessen und auf das vor 20 Stunden abgelesene Volumen mit Aqua dest. aufgefüllt, da ja natürlich auch Wasser verdunstet war. 10 ccm dieser Flüssigkeit wurden mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, hiervon 9 ccm mit 1 ccm Aqua dest., weitere 9 ccm mit 1 ccm Aceton-Lecithin (A. L.) $\frac{1}{80}$ versetzt und diese beiden Portionen durch das Stalagmometer geschickt.

Tabelle VIII.

Meiestagminversuch mit entlipoideten Seris.

	Ohne A. L.	Mit A. L.	Tropfenunterschied
Entlipoidetes N.-S.	64 + 10	69 + 0	4 + 6
" Schw.-S.	66 + 0	70 + 0	4 + 0
" Ca.-S.	62 + 8	67 + 1	4 + 10

Man ersieht aus diesem Befunde, wie schon früher erwähnt, und wie es in Übereinstimmung mit *Izars*, sowie *Michelis* und *Catoretis* Arbeiten steht, ein positives und gleichsinniges Reagieren sämtlicher Sera.

Der bei der Entlipoidung der Sera verwendete Äther wurde verdunstet gelassen, wobei sich das Lipoid absetzte. Dieser Rückstand wurde neuerdings in einer kleinen Menge Äther gelöst und tropfenweise zu 30 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt, aus welcher durch Luftdurchleitung oder durch Stehenlassen in flachen Gefäßen der Äther vertrieben wurde. Das mitverdunstete Wasser wurde dadurch ersetzt, daß das Volumen der Flüssigkeit nach der Ätherverreibung mit Aqua dest. auf die ursprünglicher 30 ccm ergänzt wurde.

10 ccm dieser Aufschwemmung wurden mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, hiervon wurden 9 ccm mit 1 ccm Aqua dest. und weitere 9 ccm mit 1 ccm Aceton-Lecithin (A. L.) $\frac{1}{80}$ versetzt und diese beiden Flüssigkeiten stalagmetriert.

Tabelle IX.

Meiostagminreaktion mit den aus den Seris durch die Ätherausschüttelung gewonnenen Lipoidaufschwemmungen.

	Ohne A. L.	Mit A. L.	Tropfenunterschied
Lipoidaufschwemmung aus d.			
N.-S.	60 + 5	64 + 15	4 + 10
Dieselbe aus dem Schw.-S. .	61 + 16	67 + 13	5 + 14
Dieselbe aus dem Ca.-S. . . .	60 + 8	65 + 1	4 + 10

Auch hier zeigt sich, wie schon früher eingehend beschrieben, ein gleichsinniges Verhalten der Lipoidaufschwemmungen, die aus den verschiedenen Seris gewonnen wurden.

10 ccm entlipoidetes Serum wurde mit 10 ccm Lipoidaufschwemmung zusammengeschüttet. Hiervon 9 ccm mit 1 ccm Aqua dest., weitere 9 ccm mit 1 ccm Aceton-Lecithin (A. L.) $\frac{1}{50}$ versetzt und stalagmometriert.

Da das aus 3 ccm Serum gewonnene Lipoid zu 30 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt und auf diese Weise eine zehnfach verdünnte Aufschwemmung erhalten worden war und das entlipoidete Serum ja auch 1 : 10 verdünnt war, so resultierte beim Zusammenfügen gleicher Mengen dieser beiden Fraktionen eine Verdünnung 1 : 20, also dieselben Mengenverhältnisse wie bei der Meiostagminreaktion, da doch 1 ccm Serum durch 19 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wird.

Tabelle X.

Wiedervereinigung der entlipoideten Sera mit ihrem Lipoid.

	Ohne A. L.	Mit A. L.	Tropfenunterschied
Wiedervereinigtes N.-S. . . .	65 + 0	67 + 10	2 + 10
" Schw.-S. . . .	69 + 14	71 + 9	1 + 15
" Ca.-S. . . .	62 + 9	65 + 3	2 + 15

Während also die Verhältnisse des Normal- und Carcinomserums nach Wiedervereinigung der getrennten Fraktionen ungefähr dieselben bleiben, d. h. der Tropfenunterschied beim wiedervereinigten Carcinomserum ohne und mit A. L. größer bleibt als beim wiedervereinigten Normalserum, ergibt sich ein Kleinerwerden des Tropfenunterschiedes beim Schwangerschaftsserum gegenüber dem beim Normal- und Carcinomserum. Wenn der Tropfenunterschied an sich bei sämtlichen wiedervereinigten Seris ein größerer geworden ist, so darf dies infolge der eingreifenden Ätherwirkung nicht auffallen, und es ist dies außerdem in Parallele zu setzen mit den Untersuchungen *N. Blumenthals*. Nach diesem Autor bewirkt das Schütteln an sich schon eine Erhöhung der Tropfenzahl infolge Haftlockerung des Milieus im Serum. Ganz gleichsinnige Befunde haben wir in weiteren zwei Versuchen erzielt. Sie sind nicht nur deswegen von Wichtigkeit, weil sie die Verhältnisse bei der Schwangerschaft aufzuklären imstande sind, sondern zeigen uns auch einen Weg, die Fehlresultate bei der M. R. zu verringern, indem man auf diese Weise das positive Reagieren des Schwangerschaftsserums in ein negatives verwandelt werden kann. Da diese Versuchsanordnung jedoch kompliziert und zeitraubend ist und auch Versuchsfehler möglich sind, versuchten wir zu demselben Resultate auf

einfachere Weise zu gelangen. Wir schüttelten zu diesem Zwecke zuerst das zehnfach verdünnte Normalserum, Carcinomserum und Schwangerschaftsserum 10 Minuten mit Äther und ließen, ohne eine Trennung vorzunehmen, den Äther wieder verdunsten, in der Annahme, auf diese Weise das kolloidale Gefüge zu lockern. Wir erwarteten, dadurch ein negativ reagierendes Schwangerschaftsserum zu erhalten, weil das durch Eiweiß eingehüllte Cholesterin des Schwangerschaftsserums, auf diese Weise freigemacht, entsprechend seiner höheren Konzentration gegenüber dem Normal- und Carcinomserum, sich nun negativ verhalten müsse. Wir machten nur einige orientierende Versuche, die im allgemeinen im erwarteten Sinne ausfielen.

Unsere Versuche zeigten, daß das Cholesterin im Schwangerschaftsserum nicht in seiner Gänze wirken kann, so daß sich das Schwangerschaftsserum wie ein cholesterinarmes Serum verhält. Wir haben in unserer Arbeit „Untersuchungen über Eiweiß und Lipoid in der Saponinhämolyse“ schon darauf hingewiesen und haben diese Erscheinung auf eine andere molekulare Verteilung des Cholesterins im Serum zurückgeführt. Unsere analytischen Versuche, die zeigen, daß nach Wiedervereinigung der durch Äther getrennten Fraktionen das Schwangerschaftsserum sich negativ verhält, sprechen ebenfalls in diesem Sinne, da durch das Ausschütteln und Wiedervereinen das kolloidale Gefüge des Serums sicher stark verändert wurde. Nach den Untersuchungen *Kollerts* und *Kollert* und *Starlingers* besteht beim Schwangerschaftsserum eine Änderung des Eiweißblutbildes insofern, als die Relation Albumin zu Globulin zugunsten des Globulins verschoben erscheint. Ob auf diesem Unterschiede des Eiweißblutbildes das in obigem Sinne geänderte kolloidalchemische Verhalten des Schwangerschaftsserum beruht, ist noch nicht untersucht worden.

Zusammenfassung der synthetischen Versuche.

1. Verschiedene Eiweiß-, Cholesterin- und A. L.-Konzentrationen zeigen für sich allein eine Erhöhung der Tropfenzahl entsprechend der höheren Konzentration.
2. Eiweiß-Cholesteringemische zeigen keinerlei Aufhebung der Einzelwirkung.
3. Eiweiß-A. L.-Gemische hemmen einander in bestimmten Konzentrationen in ihrer oberflächenspannungserniedrigenden Wirkung, ebenso Stärke-A. L.-Gemische.
4. Cholesterin scheint bei Anwesenheit von A. L. allein die Wirkung des letzteren nicht hemmen zu können.
5. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eiweiß vermag Cholesterin die Antigenwirkung deutlich abzuschwächen. Dies ist jedoch nur bei bestimmten Konzentrationen der Fall, wie sie im menschlichen Serum gegeben sein dürften. In diesem Versuche vermag Stärke das Eiweiß nicht zu ersetzen.
6. Im allgemeinen reagieren cholesterinarme Sera positiv cholesterinreiche Sera negativ. Eine Ausnahme hiervon macht die Schwangerschaft, die trotz erhöhten Cholesteringehaltes meistens positiv reagiert.

Zusammenfassung der analytischen Versuche.

1. Durch Entlipoidung mit Äther werden sämtliche Sera in gleicher Weise M. R. positiv (Bestätigung der gleichlautenden Versuche *Izars*).

2. Die aus verschiedenen Seris gewonnenen Lipoidaufschwemmungen zeigen ebenfalls keinen wesentlichen Unterschied.

3. Bei Wiedervereinigung der beiden durch Äther getrennten Fraktionen ergibt sich bei allen Seris ein größerer Tropfenunterschied als bei der normalen M. R., was wohl am ehesten durch die bei der Ätherausschüttelung stattgefundenen Haftlockerung des Milieus erklärt werden kann.

4. Das wiedervereinigte Normalserum zeigt geringere Tropfenanzahl als das wiedervereinigte Carcinomserum (d. h. eine ungefähre Wiederherstellung der ursprünglichen Verhältnisse, obwohl in keiner der beiden Fraktionen für sich allein ein Unterschied zu sehen war).

5. Das wiedervereinigte Schwangerschaftsserum zeigt geringeren Tropfenunterschied als das wiedervereinigte Normalserum, auch wenn im normalen Meistagminversuch die Schwangerschaft positiver, d. h. mit größerem Tropfenunterschiede reagierte.

6. Das positive Reagieren des Schwangerschaftsserums trotz erhöhten Cholesteringehaltes dürfte auf andersartiger molekularer Verteilung des Cholesterins im Serum Schwangerer beruhen, so daß sich das Serum Schwangerer trotz erhöhten Cholesteringehaltes wie ein cholesterinarmes Serum verhält.

7. Durch Ätherausschüttelung und Wiedervereinigung der beiden Fraktionen (durch Störung des kolloidalen Gefüges) gelingt es, das Schwangerschaftsserum in ein seinem Cholesteringehalt entsprechend reagierendes Serum zu verwandeln, d. h. es reagiert das Schwangerschaftsserum nicht mehr wie im nativen Zustande positiver, sondern eher negativer als das Normalserum.

Theorie über das Wesen der Meistagminreaktion beim Carcinom.

Das Wesen der Meistagminreaktion liegt in einem Adsorptionsprozeß. Es wird während des zweistündigen Zusammenseins des Serums mit dem Antigen, dieses mehr (negativer Ausfall) oder weniger (positiver Ausfall) durch die Kolloidteilchen des Serums, wie dies aus den Untersuchungen *Farmer Loeb's* hervorgeht, adsorbiert. Der Ausfall der Reaktion hängt von verschiedenen chemischen und physikalisch-chemischen Zuständen des Serums ab. Ein verminderter Cholesteringehalt des Serums ruft positiven Ausfall der Reaktion hervor. Es können jedoch auch Sera mit erhöhtem Cholesteringehalt positiv reagieren, und zwar dann, wenn durch physikalisch-chemische Zustände (Globulin-Cholesterinbindung?) das Cholesterin durch das Serumeiweiß in der Weise verhüllt wird, daß sich dann diese Sera trotz ihres erhöhten Cholesteringehaltes wie cholesterinarmer Sera verhalten (Schwangerschaft).

Literatur.

- Ascoli*, Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 2. — *Ascoli* und *Izar*, ebendasselbst, Nr. 4 und 8. — *Irene Barát*, Wien. klin. Wochenschr. 1923, S. 221. — *Berczeller*, diese Zeitschr. 66, 218, 1914. — *N. Blumenthal*, Zeitschr. f. Immun. 24, 42, 1916. — *Brüggemann*, Mitteilungen a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 25, H. 6. — *Catoretti*, Wien. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 18, S. 637. — *Derselbe*, Giornale dell'Acad. die Med. di Torino 1913. — *Derselbe*, Biochem. e terapia sperimentale 1913. — *Chauffard*, *Laroche* und *Grigaut*, Ann. d. med. 8, 9, 1920. — *Ehrentheil* und *Weis-Ostborn*, Zeitschrift f. Immunitätsforschung, 86, 356, 1923. — *Ferrari* und *Urizio*, Wien. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 16, S. 625. — *H. Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., 1922, S. 793. — *M. Huffmann*, Arch. f. Gyn. 1915, S. 33. — *Isovesco*, C. r. d. soc. biol. 62, 630. — *Izar*, Zeitschr. f. Immun. 21, 301, 1914. — *Derselbe*, Wien. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 18. — *Derselbe*, diese Zeitschr. 29, 13. — *Jedlička*, Cas. lekar. česk. 1921, S. 73. — *Kelling*, Wien. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 44. — *Derselbe*, ebendasselbst, Nr. 3. — *Kipp*, Path. Lab. Univ. of Pittsburgh, Journ. of Biochem. 44, Nr. 26, 1920. — *Köhler* und *Luger*, Wien. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 29; 1913, Nr. 8; 1918, Nr. 37. — *Kollert*, Zeitschr. f. klin. Med. 1923, H. 4—6. — *Kollert* und *Starlinger*, Wien. klin. Wochenschr. 1923, Nr. 7; Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 80, 293, 1922. — *Farmer Loeb*, diese Zeitschr. 186, 190, 1923. — *Luger*, *Weis-Ostborn* und *Ehrentheil*, Zeitschrift f. Immunitätsforschung 86, 17, 1923. — *Malerba*, Instit. di clin. med. univ. Genova 87, 602. — *Micheli* und *Catoretti*, La clinica med. ital. 52, 1913; Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 21, S. 1122; La clinica med. ital. 52, 1913; Acad. med. Torino, Sitz. 15, IV, 1910. Natura e sig. della react. meiostrag. Milano 1913. — *Port*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 99, 259, 1910. — *Ransom*, Deutsch. med. Wochenschr. 13, 194, 1901. — *Rosenberg*, ebendasselbst 1913, Nr. 20, S. 927. — *Starlinger*, Klin. Wochenschrift 1923. — *Stammler*, Verh. d. Deutsch. Ges. f. Chir. Kongreßbl. 1911, Berlin. — *Tedesco*, Wien. med. Wochenschr. 1910, Nr. 26. — *Zarcicky*, Wien. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 8, S. 29.
-

Die Elimination des Methylalkohols und die Bedingungen für die Akkumulation desselben.

Von

Erik M. P. Widmark und Nils V. Bildsten.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut Lund.)

(Eingegangen am 3. April 1924.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

I. Die Elimination bei wiederholter Injektion.

Die Kurve, welche man aus den Bestimmungen des Konzentrationsfalles des Methylalkohols im Blut nach einer einzelnen Injektion erhält, eignet sich nicht besonders zur Untersuchung der Eliminationsweise und der Eliminationsgeschwindigkeit dieses Alkohols. Der gleichmäßige Fall der Titrationswerte wird nämlich ein paar Stunden nach der Injektion während einer Zeit von einigen Stunden durch eine vorübergehende Erhöhung gestört. Wie wir am Schluß dieser Abhandlung zu zeigen versuchen, beruht diese Erhöhung wahrscheinlich auf einer durch den Methylalkohol verursachten Auslösung irgend-einer flüchtigen, reduzierenden Substanz.

Anstatt dessen haben wir das Problem durch eine Analyse der Konzentrationskurve, die bei *wiederholter* Injektion erhalten wird, zu lösen versucht.

Wie früher gezeigt wurde (1), wird, wenn ein indifferentes Narkotikum proportional der im Organismus vorhandenen Menge eliminiert wird, eine Akkumulationskurve erhalten, die sich einem asymptotischen Wert nähert. Ist die Zufuhr intermittierend, so fluktuiert die Menge um einen Mittelwert, der durch die Gleichung

$$y = \frac{b}{\alpha} (1 - e^{-\alpha t}) \quad (1)$$

ausgedrückt werden kann, in der y die zur Zeit t vorhandene Menge, b die pro Zeiteinheit zugeführte Menge und α eine Konstante bedeutet.

Die Asymptote für diese Kurve ist $\frac{b}{\alpha}$.

Verläuft die Elimination dagegen derart, daß pro Zeiteinheit unabhängig von der Konzentration des Stoffes im Körper eine konstante Menge eliminiert wird, so bekommt die Akkumulationskurve ein ganz

anderes Aussehen. Sie bildet eine gerade steigende Linie. Die Akkumulation kann deshalb auch bei verhältnismäßig kleinen Injektionsmengen beliebig groß werden, wenn nur die Injektionen hinreichend lange fortgesetzt werden. Verbindet man die Punkte für die Minima der Fluktuationen miteinander, so wird eine gerade Linie mit folgender Definition erhalten:

$$y = (b - \beta)t, \quad (2)$$

worin β die pro Zeiteinheit umgesetzte, konstante Menge des Stoffes angibt.

Da der Organismus für den eingeführten Stoff als Lösungsmittel von konstantem Volumen betrachtet werden kann, ist es offenbar, daß man auch unter der Voraussetzung von Diffusionsgleichgewicht diese Gesetze auf die Konzentrationsveränderungen im Blut überführen kann.

Der Methylalkohol wird äußerst langsam eliminiert. Deshalb kann man, ohne einen merkbaren Fehler zu begehen, damit rechnen, daß Diffusionsgleichgewicht vorliegt. Dieses tritt wahrscheinlich ungefähr eine Stunde nach einer intravenösen Injektion ein.

Methodik.

Die Bestimmungen des Methylalkoholgehaltes des Blutes wurden mit einer Mikromethode, die der eine von uns ausarbeitete [Bildsten (2)], durchgeführt. Die Injektionen wurden in der Regel mit 10 Stunden Zwischenzeit vorgenommen. Die Blutproben wurden teils unmittelbar vor, teils eine Stunde nach den Injektionen entnommen. Die erste Serie von Bestimmungen fällt also in die Minima der Fluktuationen, die letztere ungefähr in den Zeitpunkt, wo Diffusionsgleichgewicht eingetreten ist. Die mitgeteilten Werte sind in der Regel Mittelwerte von Doppelbestimmungen.

Versuchsprotokoll.

Tabelle I.

Versuch A. Kaninchen, Gewicht 2480 g. Intravenöse Injektion von 1.5 g Methylalkohol in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Minuten nach Beginn des Versuches	Gefundene Konzentration pro Mill.		Minuten nach Beginn des Versuches	Gefundene Konzentration pro Mill.	
0	—	1. Injektion	2430	0,90	5. Injektion
60	0,84		2490	1,57	
630	0,44	2. "	3030	1,28	6. "
690	1,02		3090	1,82	
1230	0,65	3. "	3690	1,46	7. "
1290	1,13		3750	1,93	
1830	0,87	4. "	4350	1,47	8. "
1890	1,38		4410	2,26	Tod

Tabelle II.

Versuch B. Kaninchen, Gewicht 2500 g. Injektion alle 10 Stunden 0,48 g Methylalkohol intravenös in 1,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Minuten nach Beginn des Versuches	Gefundene Konzentration pro Mill.		Minuten nach Beginn des Versuches	Gefundene Konzentration pro Mill.	
0	—	1. Injektion	1320	0,31	
60	0,17		1860	0,25	4. Injektion
660	0,09	2. "	1920	0,48	
720	0,27		2460	0,36	5. "
1260	0,19	3. "	2520	0,64	

Analyse der Versuchsergebnisse.

1. Der Konzentrationsfall innerhalb jeder Injektionsperiode. Berechnet man die Eliminationsgeschwindigkeit zwischen den zwei Bestimmungen innerhalb jeder Injektionsperiode für sich (im Versuch A zwischen den Bestimmungen zu den Zeiten 60 und 630, 690 und 1230 usw.), so werden folgende Werte erhalten:

Tabelle III.

Versuch A.		Versuch B.	
α	β	α	β
0,000 49	0,000 70	0,000 46	0,000 13
0,000 36	0,000 69	0,000 28	0,000 15
0,000 32	0,000 48	0,000 17	0,000 11
0,000 34	0,000 89	0,000 23	0,000 22
0,000 16	0,000 54	Mittel	0,000 153
0,000 16	0,000 60		
0,000 20	0,000 77		
Mittel	0,000 667		

In dieser Tabelle sind die Werte der ersten Kolonne nach der Exponentialgleichung (1), die der zweiten Kolonne nach der linearen Gleichung (2) berechnet.

Wie man sieht, sinkt der Wert für α während des Ganges des Versuches erheblich. Hinsichtlich β kann eine derartige Verschiebung der Werte nicht festgestellt werden. Würde der Konzentrationsfall nach der Reaktion erster Ordnung verlaufen, so sollten die Werte für α Konstanz aufweisen, wogegen die Werte für β während des Versuches verlaufes steigen sollten. Dies trifft indessen nicht zu. Daraus können wir schon jetzt den Schluß ziehen, daß der Konzentrationsfall am ehesten durch eine lineare Gleichung und nicht durch eine exponentiale wiedergegeben wird.

2. Der Verlauf der Akkumulationskurve.

Wenn man mit der Methode der kleinsten Quadrate eine gerade Linie durch die Minima der Fluktuationen legt (die Bestimmungen

unmittelbar vor den Injektionen), so erhält man die Gruppierung, die sich aus den Abbildungen 1 und 2 ergibt.

Die Konstanten für diese Linie werden nach

$$y_t = y_0 + \gamma t \quad (3)$$

für Versuch A:

$$y_0 = + 0,284$$

$$\gamma = + 0,000297$$

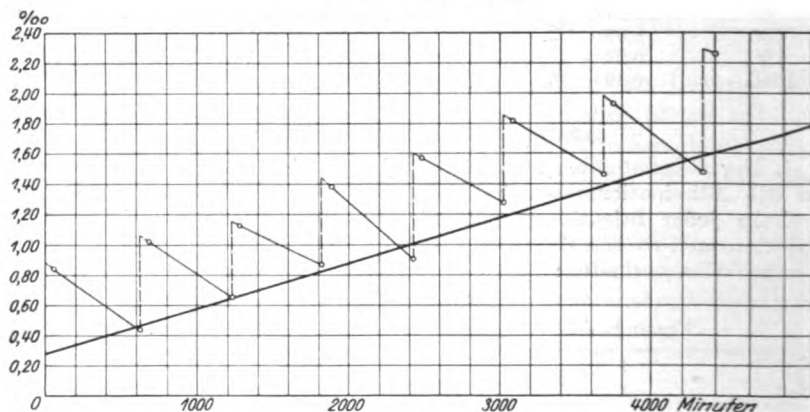


Abb. 1. Versuch A.

und für Versuch B:

$$y_0 = - 0,0037$$

$$\gamma = + 0,000145.$$

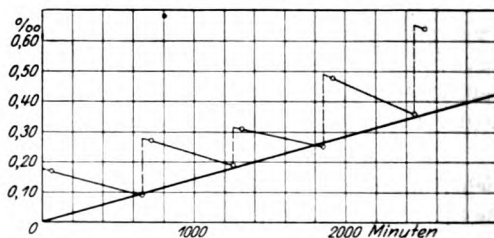


Abb. 2. Versuch B.

Im ersten Versuch beginnt also die Linie mit einem positiven Wert, was wahrscheinlich darauf beruht, daß die erste Injektion größer ausfiel als die folgenden. Im übrigen zeigt sie mit den Beobachtungen sehr gute Übereinstimmung.

Im Versuch 2 beginnt die Linie praktisch genommen im Ursprung und auch hier liegen die Beobachtungen längs der geraden Linie.

Diese Versuche zeigen also unzweideutig, daß die *Elimination* des Methylalkohols innerhalb des untersuchten Konzentrationsgebietes unabhängig von der vorhandenen Konzentration und mit einer konstanten

Menge pro Zeiteinheit erfolgt. Der Konzentrationsfall folgt der Gleichung (2).

Aus γ kann β berechnet werden. Die Akkumulationskurve durch die Minima der Fluktuationen kann geschrieben werden [vgl. *Widmark* und *Tandberg*¹⁾]:

$$y_t = y_0 + (b - \beta)t, \quad (4)$$

worin b = der Konzentrationssteigerung, die pro Zeiteinheit erhalten wird, wenn man sich die Injektion kontinuierlich erfolgend denkt.

Wird der Wert für y_t aus (3) in diese Gleichung eingesetzt, so erhält man:

$$\beta = b - \gamma.$$

Als Mittel wird für b im Versuch A aus den verschiedenen Injektionen 0,00100 erhalten. Also:

$$\beta = 0,00100 - 0,000297 = 0,000703,$$

was mit dem früher aus Tabelle III erhaltenen Mittel von 0,000667 gute Übereinstimmung zeigt.

Auf die gleiche Weise erhält man im Versuch B für β 0,00016, gegenüber einem Mittel von 0,00015 aus eben erwähneter Tabelle. Dieser Wert für die Eliminationskonstante ist indessen aus irgend einem unbekannten Anlaß besonders niedrig und erheblich niedriger, als was an anderen Versuchstieren beobachtet wurde.

II. Die Elimination bei einzelnen Injektionen.

Der Analyse des Konzentrationsfalles nach einer einzelnen Injektion liegen einige Versuche zugrunde, die früher in einem anderen Zusammenhang erwähnt wurden (2). Bei Kenntnis der Art und Weise, auf welche der Methylalkohol eliminiert wird, können wir jetzt die Störungen des gleichmäßigen Konzentrationsfalles, die in der Einleitung erwähnt wurden, näher analysieren.

Eine Prüfung der Lage der beobachteten Werte zeigt, daß die ersten und letzten in der Regel auf einer Geraden liegen. Einige der dazwischen liegenden Beobachtungen weichen durch bedeutend höhere Werte ab. Unter der Annahme, daß die Störungen also vorübergehender Art sind, kann man durch die ersten und letzten Beobachtungen (zusammen in der Regel 4 — 5) eine Gerade legen, aus der dann β bestimmt werden kann.

In den folgenden Tabellen sind die beobachteten Werte in der zweiten Kolonne eingetragen; jene, die zur Bestimmung der Geraden mit der Methode der kleinsten Quadrate verwendet wurden, sind kursiviert.

¹⁾ Diese Zeitschr. 147, 358, 1924.

In Versuch 5 wurde die erste Bestimmung nicht benutzt, da diese bereits 15 Minuten nach der Injektion ausgeführt wurde und daher die

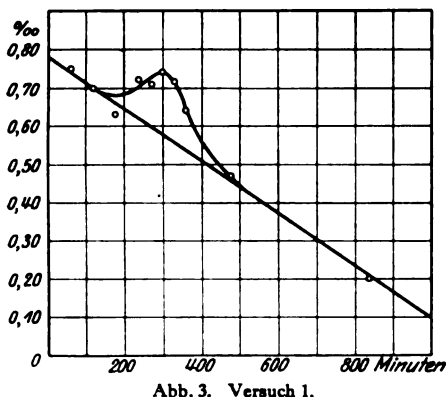


Abb. 3. Versuch 1.

Möglichkeit vorhanden ist, daß sie einen abnorm hohen Wert aufweist, weil der Alkohol vom Blut noch nicht in die Gewebe diffundiert ist. Der letzte der Versuche zeigt gewisse Unregelmäßigkeiten, weshalb hier die Bestimmung von β unsicher ist.

Die dritte Kolonne enthält die mit Hilfe der Konstanten berechneten Werte für die Konzentration. Die Berechnung erfolgte nach der Formel

$$c_t = c_0 - \beta t.$$

Die Konstanten c_0 und β sind am Fuß jeder Tabelle angegeben. Der erste Versuch ist in Abb. 3 graphisch dargestellt.

Versuch 1.

Kaninchen, Gewicht 2560 g. Intravenöse Injektion ins linke Ohr von 2,1 g Methylalkohol in 10 ccm Lösung.

Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.	Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.
60	0,75	0,74	300	0,74	0,57
120	0,70	0,70	330	0,72	0,55
180	0,68	0,66	360	0,64	0,53
240	0,72	0,62	480	0,47	0,45
270	0,71	0,60	840	0,20	0,21

$$c_0 : 0,78; \beta : 0,000683.$$

Versuch 2.

Kaninchen, Gewicht 2280 g. Intravenöse Injektion ins linke Ohr von 2,0 g Methylalkohol in 10 ccm Lösung.

Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.	Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.
50	0,70	0,69	350	0,67	0,52
110	0,64	0,66	410	0,52	0,49
170	0,64	0,63	470	0,45	0,45
230	0,68	0,59	530	0,42	0,42
290	0,73	0,56			

$$c_0 : 0,723; \beta : 0,000573.$$

Versuch 3.

Kaninchen, Gewicht 2690 g. Intravenöse Injektion ins linke Ohr von 2,2 g Methylalkohol in 10 ccm Lösung.

Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.	Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.
120	0,78	0,71	720	0,30	0,27
230	0,61	0,63	895	0,14	0,14
415	0,59	0,50	1065	0,02	0,02
555	0,66	0,39			

$$c_0 : 0,800; \quad \beta : 0,000736.$$

Versuch 4.

Kaninchen, Gewicht 2760 g. Intravenöse Injektion von 2,3 g Methylalkohol in 10 ccm Lösung.

Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.	Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.
70	0,86	0,84	365	0,66	0,50
120	0,79	0,79	430	0,60	0,42
180	0,69	0,71	505	0,48	0,33
300	0,84	0,57	660	0,16	0,15

$$c_0 : 0,925; \quad \beta : 0,00117.$$

Versuch 5.

Kaninchen, Gewicht 2340 g. Intravenöse Injektion von 2,1 g Methylalkohol in 10 ccm Lösung.

Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.	Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.
15	0,98	0,77	270	0,74	0,57
60	0,75	0,73	300	0,72	0,55
120	0,68	0,69	420	0,51	0,46
180	0,63	0,64	600	0,81	0,82
240	0,70	0,60	780	0,20	0,19

$$c_0 : 0,777; \quad \beta : 0,000756.$$

Versuch 6.

Kaninchen, Gewicht 2100 g. Intravenöse Injektion ins linke Ohr von 2,0 g Methylalkohol in 10 ccm Lösung.

Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.	Minuten nach Injektion	Gefundene Konzentration Prom.	Berechnete Konzentration Prom.
15	1,11	1,27	420	1,07	1,00
75	1,24	1,23	555	0,77	0,91
150	1,15	1,18	745	0,96	0,79
225	1,25	1,18	1115	0,44	0,55
305	1,18	1,08			

$$c_0 : 1,276; \quad \beta : 0,000655.$$

Subtrahiert man die berechneten Werte von den beobachteten, so bekommt man einen klaren Überblick über den Vorgang beim Auftreten der supponierten Substanz im Blut. Diese Differenzwerte sind

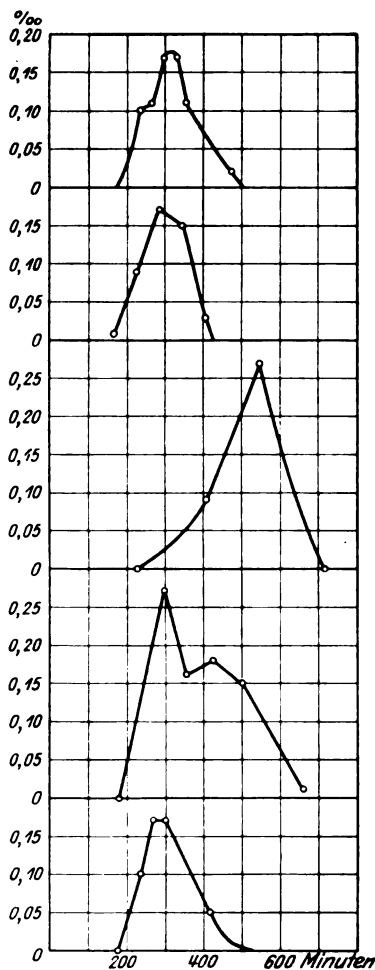


Abb. 4. Versuch 1 bis 5.

in Abb. 4 graphisch wiedergegeben. Aus dieser ist ersichtlich, daß die Erhöhung in der Regel etwa 150 bis 200 Minuten nach der Injektion auftritt und ungefähr 100 Minuten später ihr Maximum erreicht. Hierauf tritt ein rascher Fall ein, so daß der Stoff nach weiteren 200 bis 400 Minuten nicht mehr nachgewiesen werden kann. In Versuch 3 tritt die Erhöhung bedeutend später als in den übrigen Versuchen ein. Diese zeigen untereinander gute Übereinstimmung. Die Resultate wurden quantitativ als Methylalkohol berechnet. Die maximale, gefundene Konzentration entspricht 0,27 Prom. Methylalkohol. Zur Erforschung der Natur des Stoffes sind weitere Untersuchungen in Aussicht genommen.

III. Die Veränderungen der absoluten Alkoholmenge.

Kennt man das Volumen, auf welches die absolute Menge Methylalkohol verdünnt werden muß, um die gleiche Konzentration wie die im Blut zu erreichen, so kann umgekehrt aus der Konzentration (c) die im Organismus vorhandene totale Alkoholmenge (A) berechnet werden. Es geschieht dies nach der Formel

$$A = c \cdot m.$$

Die Bestimmung von m , dem reduzierten Körpervolumen, bietet gewisse Schwierigkeiten, besonders für Substanzen, die rasch eliminiert werden. In derartigen Fällen ist es nämlich schwierig, in einem gegebenen Augenblick gleichzeitig die absolute Menge des Stoffes, sowie auch dessen Konzentration im Blut zu kennen. Beim Methylalkohol, der äußerst langsam eliminiert wird, ist dies leichter. Bei dieser Berechnung sind wir nach den gleichen Prinzipien vorgegangen, die wir

früher hinsichtlich des Acetons verwendeten (3). Unter der Annahme, daß die Konzentration des Methylalkohols vom Injektionsaugenblick an geradlinig sinkt, kann man die theoretische Konzentration im Injektionsaugenblick durch eine einfache Berechnung aus den bestimmten Werten ermitteln. In diesem Augenblick ist auch die absolute Alkoholmenge bekannt.

Mit dieser Methode wurde das reduzierte Körpervolumen in den Versuchen A und B aus jeder Injektion während der Akkumulationszeit berechnet. Für das Kaninchen im Versuch A erhält man 2308 ccm und für das Kaninchen im Versuch B 2330 ccm. Dividiert man mit den respektiven Körpergewichten, so erhält man in beiden Fällen einen Quotienten von 0,93. Dieses Verhältnis zwischen reduziertem Körpervolumen und Körpergewicht ist ungefähr das gleiche wie beim Aceton. Die Verteilung dieser beiden Stoffe im Organismus scheint also von gleicher Art zu sein. Als praktische Regel kann angegeben werden, daß man den Wert für das reduzierte Körpervolumen erhält, indem man das Körpergewicht mit 5 bis 10 Proz. reduziert.

Die Versuche 1 bis 6 eignen sich zur Berechnung von m weniger gut, weil hier bei den Injektionen auf ein genaues Abmessen der absoluten Menge Methylalkohol keine besondere Aufmerksamkeit verwendet wurde. Es dürften geringere Verluste vorgekommen sein, wodurch die Werte etwas höher als die früher erwähnten ausfielen. Als Mittel für alle Versuche berechnete sich der Quotient $m/\text{Körpergewicht}$ zu 1,02 mit einem größten Wert von 1,21 und einem kleinsten von 0,75.

Die Elimination des Methylalkohols im absoluten Maß.

Die pro Zeiteinheit eliminierte Menge Methylalkohol (D) wird offenbar:

$$D = m\beta.$$

Berechnen wir diese Menge aus den Konstanten der verschiedenen Versuche, so werden folgende Werte erhalten:

Versuch	Eliminierte Menge mg/Min.	Versuch	Eliminierte Menge mg/Min.
A	1,6	3	2,0
B	0,37	4	2,9
1	1,8	5	2,0
2	1,6	6	1,0

Bei gegebener Eliminationsgeschwindigkeit ist die umgesetzte absolute Menge dem reduzierten Körpervolumen direkt proportional. In obenstehenden Versuchen ist dies jedoch auf Grund der großen Schwankungen von β nicht deutlich ersichtlich. Nur im letzten Versuch ist dieses Verhältnis deutlich. Es handelt sich hier um das kleinste

Kaninchen der Versuchsserie mit einem Körpergewicht von nur 2100 g, gegenüber 2700 bis 2400 der übrigen. Versuch B bildet des abnorm niedrigen Eliminationskoeffizienten halber eine auffallende Ausnahme.

IV. Die Bedingungen für die Akkumulation.

Die Bedingungen für die Akkumulation des Methylalkohols beim Kaninchen sind hiermit gegeben. Sie können in Kürze auf folgende Weise zusammengefaßt werden:

a) Für das Eintreten einer Akkumulation wird eine Zufuhr gefordert, die βm Gewichtseinheiten pro Zeiteinheit übersteigt. Im absoluten Maß ausgedrückt, beträgt diese Menge, wie die in der Tabelle angegebenen Quantitäten zeigen, ungefähr 1 bis 2 mg Methylalkohol pro Minute.

b) Geht man von einer gegebenen Methylalkoholmenge im Organismus aus, so wird diese unverändert beibehalten, wenn man die Zufuhr auf der Quantität βm erhält. Ist die Zufuhr geringer, so wird der Methylalkoholvorrat geradlinig bis auf einen gewissen Wert vermindert, wo ein langsamerer Fall beginnt. Dieser Punkt dürfte, was den Methylalkohol betrifft, sicherlich bei einer Konzentration im Blut liegen, die weniger als 0,1 Prom. beträgt (s. *Widmark* und *Tandberg*).

Es sei hier besonders darauf aufmerksam gemacht, daß diese Schlußsätze bis auf weiteres nur auf die hier untersuchten Konzentrationen, die 3 Prom. nicht überstiegen haben, angewendet werden können. Die Bestimmung der Eliminationskonstanten gilt für ruhende Tiere. In welchem Maß diese Konstante durch verschiedene Einflüsse, wie Bewegung und anderes variiert wird, ist noch nicht untersucht worden.

Welche Schlußsätze kann man aus den geschilderten Versuchen hinsichtlich der Akkumulation des Methylalkohols im *menschlichen* Organismus ziehen?

Trotz der von verschiedenen Seiten ausgeführten Untersuchungen, die die Ungiftigkeit des absolut reinen Methylalkohols zu bekräftigen scheinen, haben wir es nicht gewagt, Versuche über die Akkumulation des Methylalkohols am Menschen anzustellen. Die einzelnen Versuche, welche zeigen, daß gewisse Versuchspersonen den reinen Methylalkohol, ohne Schaden zu leiden, einnehmen konnten, berechtigen uns nicht, die Möglichkeit abzulehnen, daß es andere Individuen gibt, die eine gewisse Disposition für die Giftwirkung besitzen. Der abnorm niedrige Eliminationskoeffizient, der bei einem der Versuchstiere beobachtet wurde, zeigt in eine solche Richtung.

Wir haben indessen alle Ursache zu der Annahme, daß der Methylalkohol in qualitativer Hinsicht beim Menschen auf die gleiche Weise wie beim Kaninchen eliminiert wird. Wie in einem späteren Aufsatz

gezeigt werden soll, ist dies beim Äthylalkohol der Fall. Mit Bezug auf die Größe von β können wir indessen ohne Versuche nichts sagen. Wir müssen uns hier auf ein Rechenexperiment beschränken. Wir nehmen an, daß der Eliminationskoeffizient beim Menschen von der gleichen Größenordnung ist wie beim Kaninchen, d. h. etwa 0,0006. Hieraus können wir den Methylalkoholumsatz pro Minute ganz auf dieselbe Weise wie beim Kaninchen berechnen. Das reduzierte Körpervolumen betrage 70000 ccm, also ein etwa 75 kg wägender Mann. Die umgesetzte Menge wird also betragen:

$$0,0006 \times 70000 = 42 \text{ mg/Minute.}$$

Dies macht pro Tag ungefähr 60 g. Sind die angenommenen Konstanten richtig, so würde dies bedeuten, daß, wenn eine Person täglich ein Quantum Methylalkohol verzehrt, welches 150 ccm einer 40 proz. Lösung übersteigt, der Methylalkohol während den Intervallen zwischen der Zufuhr nicht aus dem Blut verschwindet, wenn diese auch nur einmal täglich erfolgt. Der Alkoholgehalt muß von Tag zu Tag erhöht werden.

Literatur.

1) Diese Zeitschr. 1924. — 2) Ebendasselbst 1924. — 3) Acta Med. Scand. V. 52, 111.

Über ein Komplement der Amylasen und das Grenzdextrin.

Dritte Mitteilung¹⁾.

Von

Hans Pringsheim und Arthur Beiser.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 4. April 1924.)

Versuche mit Speichel.

In früheren Versuchen²⁾ wurde gezeigt, daß bei geeigneter Versuchsanstellung gute Übereinstimmung sowohl in der Sekretion wie in der Aktivität der Speichelamylase bei verschiedenen Versuchspersonen gefunden werden kann. Mit diesem Rüstzeug ausgestattet, prüften wir die Literaturangaben, ob hierbei regelmäßige Tagesschwankungen aufzufinden sind und ob die Art der Nahrung von Einfluß ist. Wir fanden den nachmittags 4 Uhr entnommenen Speichel ohne und mit Komplement wirksamer als den Morgenspeichel, wohingegen kein Unterschied zwischen stärkerer, normaler und stärkefreier Nahrung festgestellt werden konnte. Die Sekretion blieb dauernd konstant.

Wirkung auf die beiden Stärkebestandteile.

Hauptsächlich interessierte uns die Beantwortung der Frage, welcher der beiden Stärkebestandteile in seiner Spaltung durch die Amylasen vom Komplement beeinflußt wird. *Sherman* und *Baker*³⁾ bestätigten die von der französischen Schule *Maquennes* gemachte Beobachtung, daß die Inhaltssubstanz schneller als die Hüllenssubstanz verzuckert wird, wozu sie sich allerdings einer nach den heutigen Ansprüchen nicht ganz ausreichenden Trennung des Amylopektins von der Amylose durch Zentrifugierung bedienten. Wir wandten einwandfrei getrennte Stärkebestandteile an, die wir nach einer von *H. Pringsheim* und *Wolfsohn*⁴⁾ angegebenen, zum Teil den Vorschlägen

¹⁾ Frühere Mitteilungen: Ber. 56, 1762, 1923; diese Zeitschr. 142, 108, 1923.

²⁾ *H. Pringsheim* und *Gorodowski*, diese Zeitschr. 140, 175, 1923.

³⁾ *Sherman* und *Baker*, Journ. Amer. Soc. 38, 1885, 1916.

⁴⁾ *H. Pringsheim* und *Wolfsohn*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 57, 887, 1924.

von *Ling* und *Nanji*¹⁾ entnommenen Methode herstellten. Mit diesen reinen Stärkekomponenten war der Ausschlag ein sehr scharfer: wir stellten fest, daß die Amylose weit schneller als das Amylopektin und auch ohne Komplement quantitativ in Maltose umgewandelt wird. Der wichtigste Punkt unserer Beobachtungen ist nun, daß die Spaltung der Amylose durch das Komplement gar nicht, die des Amylopektins jedoch energisch vom Komplement beeinflusst wird. *Das Grenzdextrin muß also ein Bruchstück des Amylopektins sein.*

Das Grenzdextrin ein Teil des Amylopektins.

In diesem Zusammenhange ist von besonderer Bedeutung, daß das *Grenzdextrin als ein Trisaccharid* charakterisiert werden konnte, während soeben im Elementarkörper des Amylopektins mindestens drei glucosidisch verkettete Traubenzuckermoleküle nachgewiesen wurden²⁾. Der Zusammenhang wird noch enger, wenn man berücksichtigt, daß das Grenzdextrin und das durch Erhitzen von Amylopektin in Glycerin gewonnene Trihexosan wie das durch Acetylieren des Grenzdextrins und des Amylopektins gewonnene Acetat fast dieselbe spezifische Drehung zeigen. Wir können uns nicht erklären, wieso die von *Lintner* und *Kirschner*³⁾ mit dem Grenzdextrin ausgeführte Molekulargewichtsbestimmung auf ein Hexasaccharid stimmende Werte ergab; wir haben uns gegen Irrtümer dadurch gesichert, daß wir auch das Acetat des Grenzdextrins in Phenol mit dem gleichen Resultate wie das Dextrin für die kryoskopische Bestimmung verwandten.

Komplement und Glykogen.

Schon früher⁴⁾ ist auf die auffallende Übereinstimmung zwischen Amylopektin und Glykogen hingewiesen worden. Wir finden sie durch das Verhalten gegenüber dem Komplement bestätigt. Das Komplement hat eine besonders ausgeprägte und in den letzten Stadien der Verzuckerung noch über das Amylopektin hinausgehende Beeinflussung des Glykogens.

Komplement in natürlichen Amylasen.

In der zweiten Mitteilung wurde besonders darauf hingewiesen, daß die amylolytische Spaltung der Stärke häufig auch ohne das Komplement über den Grenzwert hinausgeht und sich in einigen Fällen der quantitativen annähert. Die Annahme lag deshalb nahe, daß den Amylasen an ihren natürlichen Fundstellen schon an sich Komplement,

¹⁾ *Ling* und *Nanji*, Soc. 123, 2666, 1923.

²⁾ Vgl. hierzu *H. Pringsheim* und *Wolfsohn*, a. a. O.

³⁾ *Lintner* und *Kirschner*, Zeitschr. f. Ang. 36, 119, 1923.

⁴⁾ *H. Pringsheim* und *Goldstein*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 55, 1446, 1922.

wenn auch vielleicht in wechselnder Aktivität beigemischt sei. Wir bestätigen diese Auffassung in einer Versuchsreihe: ließen wir eine Stärkespaltung einmal mit einem gut ausdialysierten Malzauszug allein und ein anderes Mal in Gegenwart des durch eine Fischblase hindurchgewanderten Teiles vor sich gehen, so fanden wir im zweiten Falle eine ausgesprochene Beschleunigung. Es muß also Komplement in dialysablem Zustande dem natürlichen Malzauszug beigemischt gewesen sein.

Ohne hier die Gründe noch einmal zu rekapitulieren, ergibt sich nach unserem Dafürhalten aus den geschilderten Resultaten, daß das Grenzdextrin aller Wahrscheinlichkeit nach nicht ein bestimmtes Bruchstück aus dem polymeren Anhydrozucker, welcher das Amylopektin oder Glykogen darstellt, ist, sondern daß irgend ein Teil des Moleküls in depolymerisiertem Zustande als ein dem Trihexosan gleicher oder nahe verwandter Anteil als Grenzdextrin ungespalten zurückgeblieben sein kann.

Die Kristallisation der Maltose.

Wir fanden, daß nur die mit Hilfe des Komplements verzuckerten Stärkekleister mit Sicherheit zur Kristallisation kommen. Der von geringen Mengen anhaftenden Sirups durch hydraulisches Pressen befreite Zucker zeigte die auf Maltose stimmende Drehung und Reduktionskraft.

Die mögliche Mitwirkung der Hefemaltase.

Nach der Niederschrift wurde uns der Anhang der eben erschienenen Arbeit von *Holmbergh*¹⁾ bekannt, der die Wirkung des Komplements auf die in der abgetöteten Hefe noch enthaltene Maltase zurückführen will. *Holmbergh* hat die in unserer zweiten Mitteilung hervorgehobene Tatsache nicht berücksichtigt, daß das Komplement nicht schon im Anfangsstadium, sondern erst jenseits des Grenzwertes zur Auswirkung kommt. Wir haben zahlreiche Versuche mit Malzamyase bei $p_H = 5,3$ ausgeführt, bei welcher Wasserstoffionenkonzentration die in der durch Toluol abgetötete Hefe noch vorhandene Maltase, nach den Angaben *Holmberghs* nicht mehr wirksam ist, und immer Komplementwirkung gefunden. Eine solche ist übrigens auch im Versuche 5, dem einzig hierfür ausschlaggebenden von *Holmbergh* deutlich erkennbar.

Wir werden prüfen, ob unsere Versuche mit Pankreas- und Speichelaylase durch die Gegenwart der Hefemaltase beeinflusst worden sind. Unter anderem deutet schon der ausgesprochene Unterschied in der Wirkung auf Amylopektin und Amylose darauf hin, daß in unseren Hefesorten wirklich „Komplementwirkung“ vorhanden war.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 134, 68 und zwar 92, 1924.

Versuche und Bellagen.

A. Verlauf der Verzuckerung mit Speichel (nachmittags)
ohne und mit Komplement bei 37°.

Der Speichel wurde nach den Angaben von H. Pringsheim und Gorodysky¹⁾ gesammelt: in einer halben Stunde 18 ccm Speichel. Lösung S: 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 5 ccm Speichel, 35 ccm H_2O . Lösung S + Komplement: 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 5 ccm Speichel, 1 ccm Hefekomplement, 34 ccm H_2O .

Zeit	mg Cu		Proz. Maltose	
	S	S + Kompl.	S	S + Kompl.
5 Min.	76,8	77,5	66	66,9
15 "	82,68	83,3	71,7	71,7
30 "	83,3	87,1	71,7	75,4
60 "	81,4	95,4	69,8	83
120 "	95,4	97,9	83	85
180 "	50,2	50,8	86,7	86,7
6 Std.	52,1	54,7	88,6	94,3
24 "	55,9	59,15	96,2	100

Die Versuche wurden mit 10 ccm, von 180 Minuten an mit 5 ccm ausgeführt.

B. Verlauf der Verzuckerung mit Speichel (Kohlenhydrat und Fleischnahrung)
ohne und mit Komplement bei 37°.

Die Menge des gesammelten Speichels betrug nach Kohlenhydratnahrung 17,5 ccm; nach Fleischnahrung 18 ccm. Lösung S_K : 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 35 ccm H_2O , 5 ccm Speichel (Kohlenhydrat). Lösung S_{FI} : 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 35 ccm H_2O , 5 ccm Speichel (FI). Lösung $S_K + \text{Komplement}$: 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 34 ccm H_2O , 5 ccm Speichel (Kohlenhydrat), 1 ccm Hefekomplement. Lösung $S_{FI} + \text{Komplement}$: 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 34 ccm H_2O , 5 ccm Speichel (FI), 1 ccm Hefekomplement.

Zeit	mg Cu				Proz. Maltose			
	S_K	S_{FI}	$S_K + \text{Kompl.}$	$S_{FI} + \text{Kompl.}$	S_K	S_{FI}	$S_K + \text{Kompl.}$	$S_{FI} + \text{Kompl.}$
5 Min.	67,09	72,5	73,07	73,78	57,5	62,5	63,2	63,6
15 "	76,25	73,1	76,91	77,9	66	63	66	67,2
30 "	81,02	77,3	80,39	78,86	69,8	66,7	69,8	68,2
60 "	81,98	82,7	82,29	82,7	70,7	71,4	71,7	71,4
120 "	86,36	84,5	86,64	86,5	74,5	73,1	75	74,9
180 "	44,12	44,5	46,8	48,3	75,5	76,2	80,2	82,6
6 Std.	44,12	44,5	50,62	49	75,5	76,2	86,8	84
24 "	50,62	51,2	51,26	54,06	86,8	87,7	83,7	92,6
48 "	54,57	54,7	59,5	59,1	94,3	93	100	100

Die Versuche wurden mit 10 ccm bzw. 5 ccm der Lösung ausgeführt.

¹⁾ Diese Zeitschr. 140, 175, 1923.

C. Verlauf der Spaltung von Amylose und Amylopektin mit dialysiertem Malzauszug mit und ohne Komplement bei 37°.

Malzauszug: 1 ccm = 1 mg Cu. Lösung Amylose: 0,4095 g Amylose, 25 ccm Citratpuffer, 2 ccm Malzauszug, 173 ccm H₂O. Lösung Amylose + Komplement: 0,4095 g Amylose, 25 ccm Citratpuffer, 2 ccm Malzauszug, 2 ccm Hefekomplement, 171 ccm H₂O. Lösung Amylopektin: 0,2052 g Amylopektin, 12,5 ccm Citratpuffer, 1 ccm Malzauszug, 86,5 ccm H₂O. Lösung Amylopektin + Komplement: 0,2052 g Amylopektin, 12,5 ccm Citratpuffer, 1 ccm Malzauszug, 1 ccm Hefekomplement, 85,5 g H₂O.

Zeit	mg Cu				Proz. Maltose			
	Amylose	Amylop.	Amylose + Kompl.	Amylop. + Kompl.	Amylose	Amylop.	Amylose + Kompl.	Amylop. + Kompl.
1 Min.	2,32	3,67	3,32	4,32	9,4	10,6	13,7	13,2
3 "	7	5,99	7	5,99	28,8	25,3	28,8	25,3
5 "	9,67	6,67	8,65	5,99	40,3	27,6	50,7	25,3
10 "	13,99	8,97	13,99	8,97	57,6	37,2	57,6	37,2
15 "	13,99	9,66	13,99	8,97	57,6	40,3	57,6	37,2
30 "	13,65	9,4	13,99	9,4	56,6	38,9	57,6	38,9
60 "	13,99	11,7	13,99	12,02	57,6	48,3	57,6	49,2
180 "	15,27	—	16,25	—	63,1	—	67,2	—
6 Std.	16,25	6,82	16,25	7,8	67,2	56,6	67,2	64,4
24 "	17,2	7,8	17,5	7,8	71,4	64,4	72,3	64,4
48 "	18,2	—	18,2	—	75,5	—	75,5	—
72 "	19,5	—	19,5	—	80,6	—	80,6	—
96 "	19,8	—	20,15	—	82	—	83,9	—
144 "	22,1	—	22,1	—	91,7	—	91,7	—
168 "	22,1	—	22,1	—	91,7	—	91,7	—
192 "	23,6	—	23,6	—	98,1	—	98,1	—

Die Versuche wurden mit 10 ccm bzw. 5 ccm ausgeführt.

Bezüglich der Komplementwirkung auf Amylopektin jenseits des Grenzabbaus vergleiche unter D.

Grenzextrin.

Der durch Vergärung gewonnene Restkörper ergab folgende Resultate.

0,1102 g Substanz, 0,1788 g CO₂, 0,0634 g H₂O.

Ber.: C = 44,44, H = 6,17 Proz.

Gef.: C = 44,26, H = 6,43 „

Molekulargewichtbestimmung: (C₆H₁₀O₅)_n = 486.

Substanz	H ₂ O	Depression	Molekulargewicht
0,0969 g	10 g	0,040	448,1
0,3095 g	10 g	0,110	520,5
0,0976 g	10 g	0,030	564,0

Reduktionsbestimmung: 0,1008 g Substanz = 9 mg Cu.

Optisches Verhalten:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+ 3,2^{\circ} \cdot 10}{0,2016} = + 158,9^{\circ} \text{ (in Wasser).}$$

Acetylprodukt.

1,5 g Restkörper wurden mit 0,05 g Chlorzink und 15 ccm Essigsäureanhydrid zusammengegeben. Durch kurzes Aufkochen brachten wir das Gemenge zur Reaktion und gossen die klare Lösung in kaltes Wasser.

wobei sofort ein gelber Körper ausfiel. Er wurde durch Umlösen aus Alkohol gereinigt. Ausbeute 1,4 g.

0,0943 g Substanz, 0,1700 g CO₂, 0,0491 g H₂O.

Ber. C = 50,0, H = 5,55 Proz.

Gef. C = 50,3, H = 5,82 „

Molekulargewichtsbestimmung in Phenol. $[(C_6H_7O_6)_3(CH_2CO)_3] = 864$.

Substanz	Phenol	Depression	Molekulargewicht
0,1183 g	14,5 g	0,075	783
0,2280 g	14,5 g	0,139	814

Optisches Verhalten:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+2,36^{0.5}}{0,0819} = +146,5^0 \text{ (in Acetylentetrachlorid).}$$

D. Verlauf der Spaltung von Glykogen und Amylopektin mit dialysiertem Malzauszug mit und ohne Komplement bei 37°.

Malzauszug: 1 ccm = 1 mg Cu. Lösung Glykogen: 0,2035 g Glykogen, 12,5 ccm Citratpuffer, 1 ccm Malzauszug, 86,5 ccm H₂O. Lösung Glykogen + Komplement: 0,2084 g Glykogen, 12,5 ccm Citratpuffer, 1 ccm Malzauszug = 1 ccm Hefekomplement, 85,5 ccm H₂O.

Zeit	mg Cu		Proz. Maltose	
	Glykogen	Glykogen + Kompl.	Glykogen	Glykogen + Kompl.
1 Min.	—	2,32	—	9,4
3 "	2,32	4,2	9,4	17,1
5 "	4,2	5,32	17,1	21,7
10 "	3,3	7,27	13,4	29,7
15 "	3,9	7,15	15,8	29
30 "	6,05	7,15	24	29
60 "	6,82	9,75	27,6	39,6
180 "	7,47	10,4	30,4	40,3
6 Std.	4,55	6,5	37,1	52,9
24 "	5,2	8,12	38,5	66
48 "	6,5	9,1	52,9	74,2

Die Versuche wurden mit 10 ccm bzw. 5 ccm ausgeführt.

Lösung Glykogen: 0,061 g Glykogen, 3,1 ccm Citratpuffer, 0,4 ccm Malzauszug, 26,5 ccm H₂O. Lösung Glykogen + Komplement: 0,061 g Glykogen, 3,1 ccm Citratpuffer, 0,4 ccm Malzauszug, 0,4 ccm Hefekomplement, 26,1 ccm H₂O. Lösung Amylopektin: 0,06 g Amylopektin, 3,1 ccm Citratpuffer, 0,4 ccm Malzauszug, 26,5 ccm H₂O. Lösung Amylopektin + Komplement: 0,06 g Amylopektin, 3,1 ccm Citratpuffer, 0,4 ccm Malzauszug, 0,4 ccm Hefekomplement, 26,1 ccm H₂O.

Zeit	mg Cu				Proz. Maltose			
	Glykogen	Amylop.	Glykogen + Kompl.	Amylop. + Kompl.	Glykogen	Amylop.	Glykogen + Kompl.	Amylop. + Kompl.
48 Std.	5,85	4,87	10,4	8,45	50,2	42,4	89,4	73,8
72 "	6,5	—	11,38	10,4	56	—	98	90,7
120 "	7,15	8,45	11,38	9,75	61,2	73,8	98	84,9
144 "	7,15	8,78	11,7	10,08	61,2	75,9	100	88,3
168 "	7,15	9,1	11,7	10,08	61,2	78,8	100	88,3

E. Verzuckerung des Restkörpers mit dialysiertem Malzauszug und dem äußeren Teil als Komplement bei 37°.

Versuche mit Grenzdextrin.

Malzauszug: 1 ccm = 2,29 mg Cu; äußerer Teil: 1 ccm = 54 mg Cu.
Lösung Restkörper: 50 ccm 2proz. Restkörperlösung, 10 ccm $p_H = 5,3$,
5 ccm Malzauszug, 35 ccm H_2O . Lösung Restkörperk. + Komplement:
50 ccm 2proz. Restkörperlösung, 10 ccm $p_H + 5,3$, 5 ccm Malzauszug,
5 ccm Komplement, 30 ccm H_2O .

Zeit	mg Cu		Proz. Maltose	
	Restkörperlsg.	Restk. + Kompl.	Restkörperlsg.	Restk. + Kompl.
5 Min.	13,8	42,1	10,7	9,6
15 "	16,8	47	13,3	13,6
30 "	21	49	16,8	15,5
60 "	23,3	54	18,8	19,8
180 "	33,5	64,17	27,5	28,9
6 Std.	44,07	72,5	36,8	36,1
24 "	34	52,4	56,9	63,4
48 "	39,16	61,43	65,8	79,3
72 "	47,25	64,9	79,4	85,4
100 "	48,7	65,8	82,4	87
124 "	51,96	68,2	88,1	91,1
148 "	48,4	65,6	82,6	84,7
172 "	53,02	70,6	90,1	95,3

Die Versuche wurden mit 10 ccm bzw. 5 ccm ausgeführt.

F. Verzuckerung mittels Malzauszugs und dem äußeren Teil als Komplement bei 37°.

Versuche mit Stärke.

1 ccm = 2,29 mg Cu; äußerer Teil: 1 ccm = 57 mg Cu. Lösung St.:
50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm $p_H = 5,3$, 3 ccm Malzauszug, 37 ccm
 H_2O . Lösung St. + Komplement: 50 ccm 2proz. Stärkelösung, 10 ccm
 $p_H = 5,3$, 3 ccm Komplement, 34 ccm H_2O .

Zeit	mg Cu		Proz. Maltose	
	Stärkelösung	Stärkelsg. + Kompl.	Stärkelösung	Stärkelsg. + Kompl.
6 Std.	87,1	102,7	74,8	77,8
24 "	100,4	113,1	86,5	85,6
30 "	100,4	113,1	86,5	85,6
48 "	96,5	117	83,1	88,3
96 "	109,1	128,5	94,3	100
120 "	109,1	128,5	94,3	100

Kristallisation der Maltose.

Die durch Pressen bei 200 Atmosphären von anhaftendem Syrup befreite Maltose zeigte folgendes optische Verhalten und folgende Reduktionskraft: 37,8 mg Substanz = 39,8 mg Cu; R.-Malt. = 95,3 Proz.

Optisches Verhalten:

$$[\alpha]_D = \frac{+1,36^\circ \cdot 10,1}{0,1} = +137,3^\circ.$$

Spezifische Drehung reiner Maltose = 138° .

In unseren bisherigen Versuchen verwandten wir stets hiesige Bäckerhefe, deren Maltase nach früheren, nicht wiedergegebenen Versuchen durch 5 Minuten lange Verflüssigung mit Toluol zerstört wurde.

Wir haben mehrere neue und an verschiedenen Tagen eingekaufte Proben Bäckerhefe nach der gleichen Verflüssigungsdauer auf Maltase geprüft und auch bei optimaler Wasserstoffionenkonzentration selbst bei langer Ausdehnung der Versuche keine Spaltung beobachtet, wie nachstehende Versuche zeigen:

Lösung: etwa 1 g Maltose, 10 ccm Phosphatpuffer, 5 ccm Hefe (abgetötet), 85 ccm H_2O .

mg Cu

Zeit	Bäckerhefe 1			Bäckerhefe 2	Hefe M
	$p_H = 5,3$	$p_H = 6,1$	$p_H = 6,9$	$p_H = 6,1$	$p_H = 6,1$
0 Std.	51,0	47,7	49,7	46,3	41,4
20 "	52,6	48,9	53,0	47,5	41,4
120 "	—	—	—	—	40,8

Daß diese Hefen nichtsdestoweniger Komplementwirkung zeigen, geht aus folgenden Versuchen hervor. Dieselben Ergebnisse beobachteten wir bei der Hefe Rasse M des Instituts für Gärungsgewerbe.

Lösung St.₁: 25 ccm 2proz. Stärkelösung, 5 ccm $p_H = 5,3$, 1 ccm Malzauszug 19 ccm H_2O . Lösung St.₁ + Komplement (Bäckerhefe): 25 ccm 2proz. Stärkelösung, 5 ccm $p_H = 5,3$, 1 ccm Malzauszug, 1 ccm Komplement, 18 ccm H_2O . Lösung St.₂: 25 ccm 2proz. Stärkelösung, 5 ccm $p_H = 5,3$, 1 ccm Malzauszug, 19 ccm 2proz. Stärkelösung, 5 ccm $p_H = 5,3$, 1 ccm Malzauszug, 1 ccm Komplement, 18 ccm H_2O .

Zeit	mg Cu				Proz. Maltose			
	St. ₁	St. ₂	St. ₁ + Kompl.	St. ₂ + Kompl.	St. ₁	St. ₂	St. ₁ + Kompl.	St. ₂ + Kompl.
4 Std.	73,77	—	75,0	—	63,6	—	64,8	—
6 "	77,9	—	78,2	—	62,2	—	67,5	—
20 "	—	86,3	—	89,7	—	74,7	—	77,6
24 "	87,07	—	93,87	—	75,3	—	81,3	—
44 "	—	103,4	—	107,6	—	89,8	—	94,5
48 "	91,0	—	97,94	—	77,9	—	84,0	—
70 "	93,8	—	100,74	—	81,2	—	87,3	—

Die Versuche wurden mit 10 ccm ausgeführt.

Wir sind bereit, Herrn *Holmbergh* diese Hefesorten zum Zwecke der Nachprüfung zur Verfügung zu stellen.

Nachschrift bei der Korrektur.

Der Rockefeller-Foundation drücken wir für gütige Unterstützung unseren Dank aus.

Untersuchungen zur „Löslichkeit der Harnsäure“. I.

Von

K. Harpuder und H. Erbsen.

(Aus der medizinischen Klinik Kiel.)

(Eingegangen am 9. April 1924.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Löslichkeit der Harnsäure und ihrer Salze ist bei ihrer großen, biologischen Bedeutung seit Jahrzehnten das Problem vieler Untersuchungen gewesen. *His* und *Paul* (1) und später *Gudzent* (2) ist es gelungen, die Bedingungen der echten Löslichkeit der Harnsäure und ihrer Salze festzustellen und zu zeigen, daß sie durchaus vom Massenwirkungsgesetz bestimmt werden. Bald wurde aber auffällig, daß Harnsäure und Urate die Neigung besitzen, lange Zeit über den Grenzwert ihrer wahren Löslichkeit hinaus in Lösung zu bleiben. Da diese Übersättigungserscheinungen biologisch mindestens von gleicher Wichtigkeit sind wie die echte Löslichkeit, hat man versucht auch hier Aufschluß zu gewinnen, ohne daß jedoch bis heute Übereinstimmung und allseits befriedigende Gesetzmäßigkeiten gefunden wären.

Gudzent führte die Löslichkeitsanomalien auf zwei tautomere Uratformen, die stabile und schlechter lösliche Lactim- und die labile und besser lösliche Lactamform zurück. Dadurch, daß sich die Lactamform in Lösung sehr allmählich in die Lactimform umsetzen sollte, beide also nebeneinander bestehen konnten, war die größte Variationsbreite in der Löslichkeit der Urate gegeben. Doch genügte die *Gudzentsche* Annahme nicht für manche Übersättigungserscheinungen der Urate in Salzlösungen und für Übersättigungen der Harnsäure selbst in Gegenwart von Uraten. *Ringer*³⁾ nahm die Hypothese von *Roberts* wieder auf und glaubte, den Beweis für die Existenz einer Komplexverbindung zwischen Harnsäure und Urat — die er Quadriurat nannte — erbracht zu haben, für die andere Löslichkeitsbedingungen gelten sollten. *Kohler* (4) bestritt das Vorhandensein der Quadriurate, stellte die Übersättigungsgrenzwerte der Harnsäure und Urate fest und grenzte damit eine metastabile Löslichkeitszone von der labilen ab; in der letzteren kommt es ohne weiteres zum Ausfall, die Vorgänge im metastabilen Gebiete regeln sich nach dem Massenwirkungsgesetz. Doch sieht sich *Kohler* daneben gezwungen, eine unerklärliche, gegenseitige Schutzwirkung von Harnsäure und Urat gegenüber dem Ausfall anzunehmen.

Schade (5) vertritt die Ansicht, daß Harnsäure und Urate, namentlich bei günstiger Reaktion, die Neigung haben, in kolloidaler Form aufzutreten, und erklärt dadurch die Tendenz zu lang dauernder Übersättigung. Endlich hat man auch (namentlich *Lichtwitz*) eine stabilisierende Wirkung von Kolloiden auf die molekular gelöste Harnsäure angenommen (Schutzkolloid). Durch Untersuchungen des einen (6) von uns wurde festgestellt, daß die Harnsäure adsorbierbar ist, obwohl sie die Oberflächenspannung nicht mit dem Stalagmometer meßbar herabsetzt und sowohl von Suspensionen (Tierkohle) als von hydrophoben und hydrophilen Kolloiden mit positiver, elektrischer Ladung gebunden wird. Es ist klar, daß derartige Adsorptionsvorgänge geeignet sind, die Löslichkeitsbedingungen eines Stoffes zu beeinflussen.

Der Zweck der im folgenden wiedergegebenen Versuche war nicht, in den Streit einzugreifen, in welcher Form die Harnsäure in übersättigter, relativ stabiler Lösung vorhanden ist — molekular dispers und ionisiert, komplex gebunden, kolloidal —, die *Fragestellung* war folgende: 1. *Lassen sich über die physikalisch-chemischen Löslichkeitsbedingungen der Harnsäure neue Aufschlüsse gewinnen dadurch, daß man systematisch nur eine derselben ändert, alle anderen aber konstant erhält*; 2. *Gibt es außer den im Massenwirkungsgesetz festgelegten Einflüssen noch andere Faktoren, welche auf die Löslichkeit der Harnsäure einwirken*. Für die erste Frage schien es das beste, in Salzgemischen von bestimmter $[H^+]$ (Puffergemische) die Reaktion kontinuierlich zu ändern und die gleichzeitige Veränderung der Harnsäurelöslichkeit zu verfolgen.

Nach dem Massenwirkungsgesetz ist die Löslichkeit eines Elektrolyten abhängig von der Löslichkeit der undissoziierten Moleküle und der Größe des Ionenproduktes. Es gilt nämlich $k = \frac{[H^+][S']}{[HS]}$, wobei $[H^+]$ die Konzentration der Kationen, $[S']$ die der Anionen und $[HS]$ die der undissoziierten Moleküle bedeutet. Da $[HS]$ in gesättigter Lösung konstant ist, kann es mit k zur neuen Konstanten k_1 vereinigt werden und dann folgt, daß bei einer bestimmten Temperatur das Löslichkeits- oder Ionenprodukt

$$[H^+][S'] = k \text{ ist.}$$

Löslichkeitsveränderungen eines Elektrolyten durch weitere, gelöste Körper sind nur dadurch möglich, daß der eine Faktor des Ionenproduktes sich ändert. Fügt man zu einer gesättigten Natriumuratlösung Kochsalz, so wächst der Faktor Na^+ des Ionenproduktes, der Faktor U^- muß entsprechend kleiner werden, die Dissoziation und damit die Löslichkeit des Natriumurats nimmt ab.

Über den Einfluß der $[H^+]$ auf die Löslichkeit der Harnsäure in Puffergemischen haben unter anderen *Kohler* (7) und in jüngster Zeit *Jung* (8) Untersuchungen angestellt. Man hat aber nicht darauf ge-

achtet, die übrigen Faktoren, die die Löslichkeit verändern können, streng konstant zu halten und ist nur zu dem allgemeinen Schluß gekommen, daß die Reaktion von maßgeblicher Bedeutung ist. Eine neue Bearbeitung schien daher geboten.

Es war ferner theoretisch die Möglichkeit vorhanden, daß Kationen oder Anionen von Elektrolyten außerhalb jeder Wirkung auf das Löslichkeitsprodukt einen Effekt auf die Löslichkeit der Harnsäure ausübten und daß auch Nichtelektrolyte wirksam wären. Uns interessierte besonders eine eventuelle Bedeutung anderer Anionen neben dem Harnsäureion, weil in der älteren Literatur (9) Beobachtungen über erhöhte Löslichkeit von Harnsäure in Essigsäure und Milchsäure, und über Löslichkeit von Calciumoxalat in Natriumurat niedergelegt sind. In neuerer Zeit hat sich *Scaffidi* (10) mit der Löslichkeit der Harnsäure in Essigsäure beschäftigt und gefunden, daß Essigsäure in geringer Konzentration ($n/10$ bis $n/100$) die Löslichkeit gegenüber den Werten in reinem Wasser herabsetzt, in stärkerer Konzentration (bis $4n$) zunehmend erhöht und dann in noch höherer Konzentration wieder vermindert. Er hat aber dabei den Einfluß der $[H^+]$ nicht berücksichtigt.

Um die oben gegebene Fragestellung zu beantworten, untersuchten wir zunächst die Löslichkeitsgrenzwerte, richtiger die Grenzwerte relativ stabiler Übersättigung der Harnsäure in Phosphatpuffern mit kontinuierlich steigender $[H^+]$, aber konstanter $[Na^+]$, dann die gleichen Werte in Acetat- und Laktatgemischen. Wir verzichteten von vornherein auf eine Trennung echter Löslichkeit von relativ stabiler Übersättigung und trennten zunächst auch nicht Harnsäure und Urate, verstehen also im allgemeinen unter Löslichkeit der Harnsäure das längere Inlösungbleiben von freier Harnsäure samt ihren Salzen, wie sie sich unter den gegebenen Bedingungen eben bilden.

Methodik.

Wir stellten uns die üblichen Puffergemische aus primärem und sekundärem Natriumphosphat, Natriumacetat und Essigsäure, Natriumlactat und Milchsäure aus reinen Salzen bzw. Normallösungen (*Kahlbaum*) her, verdünnten mit destilliertem, wenn nötig mit Leitfähigkeitswasser auf 100 ccm, brachten reinste Harnsäure von *Kahlbaum* im Überschuß ein, schüttelten im Thermostaten bei 37° eine Viertelstunde, ließen 1 Stunde im Thermostaten und filtrierten ab. Der Filtrerrückstand wurde zurückgewogen, das Filtrat abgemessen und in einem aliquoten Teil die Harnsäure titrimetrisch mit Schwefelsäure und Kaliumpermanganat bestimmt. Eine vollständige Übereinstimmung zwischen Wägungs- und Titrationsergebnis konnte freilich nie erzielt werden. Im Rest des Filtrats wurde H^+ -Konzentration mit der Gaskette gemessen. Wo nichts anderes angegeben sind drei Parallelversuche gemacht. Die Konzentration und Zusammensetzung der Puffergemische ist aus den Protokollen ersichtlich.

Protokoll 1.

Natriumacetat-Essigsäure.

Gemisch	Durch Wägung als gelöst ge- funden im Liter	Durch Titration als gelöst ge- funden im Liter	Mittelwert gelöst im Liter	p _H des Gemisches
	g	g	g	
10 ccm n/10 Natriumacetat, + 90 ccm Wasser	0,256 0,245 0,241	0,277 0,271 0,271	0,260	6,16
10 ccm n/10 Natriumacetat, 0,3 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,204 0,200 0,192	0,207 0,234 0,242	0,213	6,00
10 ccm n/10 Natriumacetat, 0,6 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,198 0,185 0,187	0,216 0,216 0,183	0,198	5,62
10 ccm n/10 Natriumacetat, 1,2 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,160 0,160 0,146?	0,180 0,180 0,195	0,175	5,45
10 ccm n/10 Natriumacetat, 2,4 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,129 0,140 0,131	0,135 0,144 0,144	0,137	5,23
10 ccm n/10 Natriumacetat, 4,8 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,116 0,128 0,125	0,135 0,135 0,135	0,129	5,06
10 ccm n/10 Natriumacetat, 9,6 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,117 0,120 0,125	0,126 0,126 0,126	0,122	4,78
10 ccm n/10 Natriumacetat, 19,2 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,107 0,101 0,099	0,117 0,114 0,120	0,110	4,45
10 ccm n/10 Natriumacetat, 38,4 ccm n/10 Essigsäure, Wasser ad 100 ccm	0,086 0,085 0,089	0,099 0,093 0,104	0,093	4,14
40 ccm n/10 Essigsäure Wasser ad 100 ccm	0,063 0,063 0,063	0,072 0,072 0,072	0,068	3,26
100 ccm n/1 Essigsäure	0,083 0,081 0,079	0,090 0,088 0,093	0,086	0,1

Protokoll 2. Primäres und sekundäres Natriumphosphat.

Gemisch	Durch Wägung als gelöst ge- funden im Liter g	Durch Titration als gelöst ge- funden im Liter g	Mittelwert gelöst im Liter g	p_H des Gemisches
1,8 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	1,171	1,177	1,171	6,78
3,6 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	1,176	1,177		
Wasser ad 100 ccm	1,175	1,177		
3 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,781	0,783	0,780	6,61
3 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	0,776	0,783		
Wasser ad 100 ccm	0,782	0,774		
4,5 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,502	0,511	0,510	6,47
2,25 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	0,511	0,511		
Wasser ad 100 ccm	0,513	0,549?		
6,0 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,366	0,360	0,361	6,21
1,5 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	0,358	0,360		
Wasser ad 100 ccm	0,362	0,360		
7,2 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,246	0,252	0,249	5,97
0,9 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	0,246	0,252		
Wasser ad 100 ccm	0,243	0,252		
7,99 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,183	0,189	0,184	5,71
0,50 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	0,184	0,189		
Wasser ad 100 ccm	0,179	0,180		
8,47 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,156	0,153	0,153	5,52
0,26 ccm m/3 Na_2HPO_4 ,	0,151	0,153		
Wasser ad 100 ccm	—	0,153		
9 ccm m/3 NaH_2PO_4 ,	0,097	0,099	0,097	4,61
Wasser ad 100 ccm	0,095	0,099		
	0,094	0,099		

Protokoll 3. Natriumlactat und Milchsäure.

Gemisch	Durch Wägung als gelöst ge- funden im Liter g	Durch Titration als gelöst ge- funden im Liter g	Mittelwert gelöst im Liter g	p_H
10 ccm n/10 Natriumlactat,	0,155	0,153	0,155	5,25
Wasser ad 100 ccm	0,158	0,153		
	0,156	0,153		
10 ccm n/10 Natriumlactat,	0,142	0,144	0,144	4,99
0,3 ccm n/10 Milchsäure,	0,141	0,144		
Wasser ad 100 ccm	0,146	0,144		
10 ccm n/10 Natriumlactat,	0,138	0,132	0,135	4,84
0,6 ccm n/10 Milchsäure,	0,132	0,133		
Wasser ad 100 ccm	0,135	0,140		
10 ccm n/10 Natriumlactat,	0,104	0,112	0,107	4,53
2,4 ccm n/10 Milchsäure,	0,105	0,106		
Wasser ad 100 ccm	0,108	0,106		
10 ccm n/10 Natriumlactat,	0,100	0,099	0,098	4,15
4,8 ccm n/10 Milchsäure,	0,099	0,097		
Wasser ad 100 ccm	0,097	0,098		
40 ccm n/10 Milchsäure,	0,099	0,099	0,098	2,78
Wasser ad 100 ccm	0,096	0,094		
	0,093	0,105		

Die Löslichkeit betrug ferner:

in n/1000 HCl	0,053 g	0,052 g	0,055 g
	0,054 g	0,054 g	0,054 g
in n/1000 H ₂ SO ₄	0,054 g	0,052 g	0,055 g
	0,054 g	0,054 g	0,054 g

bei einem p_H von jeweils 3,29.

Zeichnet man die gelösten Harnsäuremengen auf der Ordinate, die p_H -Werte auf der Abszisse eines rechtwinkligen Koordinatensystems ab, so erhält man folgende Kurven; die Lactatkurve verläuft fast identisch mit der Acetatkurve.

Es ergeben sich also deutliche, wenn auch nicht sehr erhebliche Unterschiede im Verlauf der Phosphat- bzw. der Acetat- und Lactatkurve. Bemerkenswert ist der unstete Verlauf der Acetatkurve mit dem

Löslichkeitsminimum bei p_H etwa 3. Die Löslichkeit der Harnsäure ist ferner in Essigsäure und Milchsäure etwas höher als in verdünnten Mineralsäuren von gleichem p_H . Die Phosphatkurve verläuft in der Form einer Parabel, über die Acetatkurve läßt sich nichts aussagen, weil sie nicht weit genug ins Alkalische reicht.

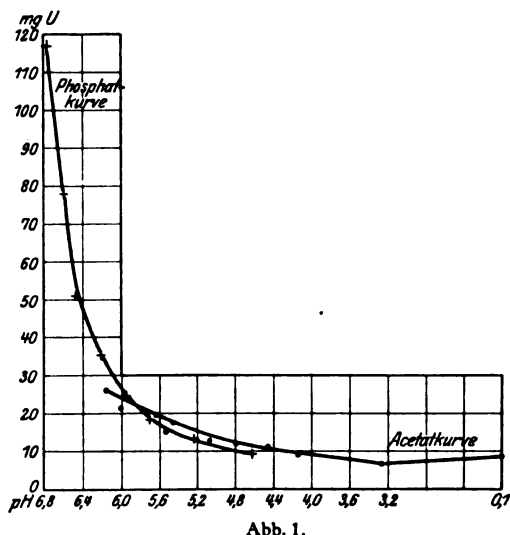


Abb. 1.

Versucht man eine *Analyse der gewonnenen Resultate*, z. B. der Phosphatgemische, so ergibt sich folgendes:

Die Veränderung der H^+ -Ionenkonzentration muß in erster Linie von Bedeutung sein auf die Zusammensetzung der gelösten „Harnsäure“, d. h. auf das *Verhältnis* von freier Harnsäure zu dem sich in der Natriumphosphatlösung bildenden Natriumurat. Henderson und Spiro (11) stellten fest, daß in einer Lösung, die eine schwache Säure und deren Alkalisalz enthält, die Gleichung

$$[H] = k \frac{[SH]}{[S]}$$

in guter Annäherung gilt. Dabei ist k die Dissoziationskonstante der Säure, $[SH]$ die Konzentration der undissoziierten Säuremoleküle,

die praktisch gleich der Gesamtsäurekonzentration, $[S']$ die Konzentration der Säureanionen, die praktisch gleich der Salzkonzentration gesetzt werden darf. Daraus ergibt sich, daß

$$\frac{[SH]}{[S']} = \frac{1}{k} \cdot [H'],$$

d. h. das Verteilungsverhältnis von Säure und ihrem Salz proportional der $[H']$ ist. *Kohler* hat die Berechnung für die Harnsäure in einigen Fällen angewendet. Führen wir sie für die Phosphatkurve systematisch durch, so ergibt sich nach Einsetzen der Dissoziationskonstante $= 2,3 \cdot 10^{-6}$ (37°):

Verteilungsverhältnis von Harnsäure und Natriumurat bei verschiedenem p_H .

p_H	$\frac{HU}{U'} =$	HU Proz.	U' Proz.	HU g pro Liter	U' g pro Liter
6,78	0,072	6,7	93,3	0,078	1,093
6,61	0,107	9,7	90,3	0,076	0,704
6,47	0,147	12,8	87,2	0,065	0,445
6,21	0,268	21,1	78,9	0,076	0,285
5,97	0,466	31,8	68,2	0,080	0,169
5,71	0,848	45,9	54,1	0,083	0,101
5,52	1,313	56,8	43,2	0,085	0,067
4,61	10,670	91,4	8,6	0,089	0,008

Weitere Erörterungen über die angestellten Berechnungen werden alsbald erfolgen. Zunächst sei noch der Effekt der $[H']$ und ihrer Änderung auf die bei der Auflösung entstehenden beiden „Harnsäurebestandteile“ betrachtet. Für die freie Harnsäure ist natürlich eine Abhängigkeit ihrer Dissoziation und damit ihrer Löslichkeit von der $[H']$ nötig, ist aber praktisch belanglos. Im ganzen Bereiche der Phosphatkurve ist die Harnsäure ohne erheblichen Fehler als undissoziiert zu betrachten, weil ihre ohnedies geringe Dissoziation in alkalischeren Gemischen durch die große Menge elektrolytisch stark zerfallenden Natriumurats, bei saurerer Reaktion durch die $[H']$ reduziert wird. Es kommt daher in der Hauptsache nur Lösung undissoziierter Harnsäuremoleküle in Frage, für die die Reaktion belanglos ist. Anders beim Natriumurat. Als Alkalisalz einer sehr schwachen Säure zerfällt es in wässriger Lösung hydrolytisch zum Teil in freie, nicht dissoziierte Harnsäure und in stark dissoziierte Natronlauge. Für diese hydrolytische Dissoziation gilt

$$k = \frac{[OH'] [HU]}{[NaU]}.$$

Danach muß die hydrolytische Dissoziation mit steigender $[H']$ zunehmen, weil dann $[OH']$ abnimmt und weiter durch vorhandene,

undissoziierte Harnsäure vermindert werden. Ferner wird mit zunehmender $[H']$ das Ionenprodukt

$$k = [H'] \cdot [U']$$

der Harnsäure überschritten werden, und es treten dann H' und Urationen unter Bildung undissoziierter Harnsäure zusammen. Mit steigender $[H']$ muß also in unseren Puffergemischen die Tendenz zur Uratbildung abnehmen, was eben im Verteilungsverhältnis seinen Ausdruck findet.

Die Berechnung der Harnsäurelöslichkeit in unserer Tabelle zeigt, daß die *Menge der gelösten freien Harnsäure in allen Fällen konstant* ist. Die Abweichungen sind nicht Versuchsfehler, sondern dadurch bedingt, daß die Formel von *Henderson* nur angenähert richtige Resultate gibt. In den stark konzentrierten Uratlösungen der alkalischeren Puffergemische ist die Konzentration der Urationen nicht gleich der des Urats, sondern richtig gleich dem Produkt aus Dissoziationsgrad des Urats und Uratkonzentration ($\alpha = 0,93$). Bei sehr geringer Uratkonzentration wird sich die Dissoziation der Harnsäure immerhin bemerkbar machen, und es ist $[SH]$ nicht mehr vollkommen gleich Harnsäurekonzentration und $[S']$ nicht mehr Uratkonzentration, sondern etwas größer. Praktisch wird man nicht weit fehlgreifen, wenn man die Löslichkeit der freien Harnsäuremoleküle durch die ganze Reihe der Phosphatgemische gleich 0,070 g pro Liter setzt. Da die Löslichkeit der undissoziierten Harnsäuremoleküle in Wasser bei 37° 0,060 g beträgt, ist die echte Löslichkeit nur wenig überschritten. Mit der Konstanz der Harnsäurelöslichkeit (im engeren Sinne) ist die Löslichkeit des Urats als direkte Funktion der $[H']$ festgelegt, was wir auch in obiger Formel zum Ausdruck bringen können. Setzen wir nämlich $[SH] = k_1$ und vereinigen $k_1 \cdot k$ in der neuen Konstanten K , so erhalten wir

$$[U'] = \frac{K}{[H']}.$$

Es fragt sich, ob außer der $[H']$ noch andere Faktoren in unseren Reaktionsgemischen auf die Löslichkeit des Harnsäurekomplexes einwirken. Eine Beeinflussung der *Löslichkeit des Natriumurats* ist durch die im „Überschuß“ vorhandenen, d. h. den Phosphaten entstammenden Na^+ -Ionen zu erwarten und in ihrem Ausmaß namentlich von *Kohler* früher schon gewürdigt. Führen wir die Berechnung der Reduktion der Natriumuratlöslichkeit in unserem Falle durch, so ergibt sich folgendes: die gesamte Konzentration an Na beträgt in sämtlichen Phosphatgemischen 0,03 Mol pro Liter. Nimmt man einen durchschnittlichen Dissoziationsgrad von 0,8 für primäres und sekundäres Natriumphosphat an, so ist die Konzentration der Na^+ in allen Fällen

0,024 Mol pro Liter. Die maximale, stabile Löslichkeit des Natriumurats bei 37° beträgt 1,4 g = 0,00673 Mol pro Liter mit einem Dissoziationsgrad von 0,933. Es ist nun

$$k = \frac{[\text{Na}^+][\text{U}']}{[\text{NaU}]}$$

$$[\text{NaU}] k = [\text{Na}^+][\text{U}']; 0,067 \cdot 6,73 \cdot k = (0,933 \cdot 6,73) \cdot (0,933 \cdot 6,73).$$

Da sich der Wert der linken Seite der Gleichung in gesättigter Lösung nicht ändern kann, bleibt auch der der rechten konstant. Erhält also der Faktor $[\text{Na}^+]$ einen größeren Wert, so muß der Faktor $[\text{U}']$ entsprechend kleiner werden. In unserem Falle ist $[\text{Na}^+] = 24$ Millimol pro Liter, also

$$(0,933 \cdot 6,73)^2 = 24 x,$$

wobei x die gesuchte, reduzierte Konzentration der Urationen ist. $x = 1,64$ Millimol, d. h. wenn die aus Harnsäure entstehende Uratmenge in unseren Phosphatgemischen 0,435 g Natriumurat pro Liter beträgt, ist die Lösung an Natriumurat gesättigt. Ohne Rücksicht auf diesen Sättigungswert steigt aber, wie unsere Versuchszahlen dartun, die Menge des sich bildenden Urats weit höher an und erreicht in den alkalischen Gemischen das Vielfache der echten Löslichkeit.

Zu erwägen ist schließlich noch, ob die *Konzentration der Phosphatgemische* von Einfluß auf die Löslichkeit der Harnsäure ist. Die aktuelle Reaktion eines Puffergemisches ist von seiner Konzentration unabhängig, die Alkalireserve des Puffers könnte aber dennoch die Löslichkeit bestimmen. Am leichtesten ist das Problem zu entwickeln, wenn man sich das Gemisch primäres-sekundäres Phosphat ersetzt denkt durch die schwache Säure primäres Natriumphosphat (in Konzentration des gesamten Phosphats) und Natronlauge (in Konzentration des sekundären Phosphats), was durchaus statthaft ist. Wird in diesem Gemisch eine zweite schwache Säure — Harnsäure — gelöst, so verteilt sich die vorhandene freie Lauge nach *Nernst* auf die beiden Säuren entsprechend ihren Dissoziationsgraden bei der bestehenden Verdünnung, also proportional den Dissoziationskonstanten. Ist Gleichgewicht eingetreten, so bestimmt die Menge des freien Alkalis und die Stärke und Menge der beiden konkurrierenden Säuren die $[\text{H}^+]$ des ganzen Gemisches, das aus zwei Puffersystemen — nämlich den beiden schwachen Säuren mit ihren Alkalisalzen — besteht, deren jedes natürlich die $[\text{H}^+]$ des ganzen Gemisches aufweist und dieser $[\text{H}^+]$ entsprechend ist das Verhältnis von Säure und Salz. Auf unsere Phosphatgemische angewendet, bedeutet dies, daß es von der Konzentration abhängt, wie stark sich die $[\text{H}^+]$ durch Auflösen der Harnsäure verschieben muß. Da wir aber unseren sämtlichen Betrachtungen die nach Auflösen der Harnsäure im endgültigen Gemisch gemessene $[\text{H}^+]$

zugrunde gelegt haben, fällt für uns eine Berücksichtigung der Pufferkonzentration für die Löslichkeit der Harnsäure weg.

Als Ergebnis der vorstehenden Überlegungen können wir zusammenfassen:

Für die Löslichkeit des Harnsäurekomplexes in Lösungsmitteln von verschiedener Reaktion ist maßgebend: 1. die Löslichkeit der freien Harnsäure und 2. die (H') . Die Menge der Urationen, die in Lösung gehen, wird von diesen zwei Faktoren bestimmt, unbekümmert um den Wert echter Löslichkeit, so daß stark übersättigte, relativ stabile Uratlösungen entstehen. Die Löslichkeit der freien Harnsäure ist eine fast konstante, durch Änderung der Zusammensetzung des Lösungsmittels nach physikalisch-chemischen Gesetzen kaum beeinflussbare Größe. Damit wird die Menge des sich bildenden Urats eine Funktion der (H') . Die zwangsmäßige Abhängigkeit der Uratlöslichkeit von der Harnsäurelöslichkeit bei bestimmtem p_H erklärt vielleicht die Neigung zur Übersättigung des ersteren, während die Harnsäure ihren echten Löslichkeitswert kaum überschreitet.

Es ist klar, daß das Gesagte nicht nur für die Auflösung von Harnsäure, sondern ebenso für die von Natriumurat gilt. Kennt man nur die endgültige $[H']$, so sind die gegebenen Berechnungen möglich, und es ist gleichgültig, ob sich das System aus Harnsäure durch Uratbildung oder aus Urat durch Harnsäurebildung hergestellt hat. Da die Phosphationen ferner in unseren ganzen Berechnungen keine Rolle gespielt haben, muß die erhaltene Regelmäßigkeit prinzipiell auch für jedes andere Puffersystem und schließlich auch für den Puffer Harnsäure-Urat in Wasser allein gelten.

Die Richtigkeit dieses letzten Schlusses und damit die *prinzipiell allgemeine Gültigkeit unserer Resultate* läßt sich leicht dartun. Übersättigt man Wasser von 18° mit Natriumurat bis zur absoluten Löslichkeitsgrenze, so erhält man folgende Werte: Gelöst 1,18 g = 0,81 g U' ; $p_H = 7,18^1$); Dissoziationskonstante der Harnsäure = $2,0 \cdot 10^{-61}$).

Teilungsverhältnis $\frac{HU}{U'} = 0,032$. HU Proz. = 3,2. Damit sind also 0,026 g Harnsäure im Liter gelöst; die Löslichkeit der Harnsäure bei 18° beträgt 0,025 mit einem Dissoziationsgrad von 9,5 Proz. Die Löslichkeit der undissoziierten Harnsäuremoleküle wäre danach 0,022 g. Es ist also auch hier die freie Harnsäure gesättigt und das Natriumurat in dem durch p_H gegebenen Teilungsverhältnis gelöst. Die freie Harnsäure entsteht aus dem Natriumurat durch hydrolytische Dissoziation des letzteren und durch Bildung von Dinatriumurat und Harnsäure. Die durch die konstante Harnsäurelöslichkeit und die $[H']$ bedingte

¹⁾ Nach Kanitz.

Übersättigung findet mit steigend alkalischer Reaktion der Lösungsflüssigkeit ihr natürliches Ende an dem von *Kohler* festgestellten Übersättigungsgrenzwert des Urats. Nimmt die Alkaleszenz nach erreichtem Grenzwert der Uratlöslichkeit weiter zu, so muß sich das Verhältnis Harnsäure—Urat weiter zugunsten des letzteren verschieben und kann dies nur, indem die Löslichkeit der Harnsäuremoleküle heruntergeht. Jetzt wird die Uratlöslichkeit konstant und die Harnsäurelöslichkeit eine von der konstanten Uratkonzentration und der $[H^+]$ abhängige Variable. Die Harnsäurelöslichkeit geht zurück, weil mit steigender $[OH^-]$ die hydrolytische Dissoziation des Natriumurats abnimmt, Ursache für die Entstehung freier Harnsäure bei der Eigenreaktion des Natriumurats und noch stärker alkalischen Werten. Die praktische Bedeutung dieser Löslichkeitsverminderung der freien Harnsäure ist gegenüber den hohen Uratwerten verschwindend gering.

Schlußsätze.

Es wird experimentell die Abhängigkeit der Lösbarkeit der Harnsäure von der Reaktion in verschiedenen Puffergemischen systematisch verfolgt. Dabei ergibt sich, daß die ermittelten Übersättigungsgrenzwerte von der Art der Puffersäure nicht vollständig unabhängig sind.

Durch Rechnung wird gezeigt, daß in Phosphatpuffern Gemische von Harnsäure und Urat entstehen, in denen die Menge der gelösten freien Harnsäure von der $[H^+]$ unabhängig und annähernd konstant ist und sich in der Höhe des echten Löslichkeitswertes hält, während die gebildeten Uratmengen von der konstanten Konzentration der freien Harnsäure und der $[H^+]$ abhängen und als deren Funktion ohne Rücksicht auf den echten Löslichkeitswert mit steigendem p_H zunehmen.

Es wird wahrscheinlich gemacht, daß diese Abhängigkeit prinzipielle Allgemeingültigkeit hat und damit eine Gesetzmäßigkeit für das Zustandekommen und die Konzentration übersättigter Uratlösungen festgestellt.

Literatur.

- 1) Zeitschr. f. phys. Chem. **81**, 1. — 2) Ebendasselbst **60**, 25, 1909; **56**, 150, 1908; **60**, 38, 1909. — 3) Ebendasselbst **67**, 332, 1910; **82**, 209, 1912. — 4) Zeitschr. f. klin. Med. **87**, 190, 339, 1919; *Ergebn. d. inn. Med.* **17**, 477, 1919. — 5) Zeitschr. f. phys. Chem. **88**, 347, 1913; *Zeitschr. f. klin. Med.* **98**, 1, 1922. — 6) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **29**, 208, 1922. — 7) *Zeitschr. f. klin. Med.* **87**, 190. — 8) *Helvet. Chimic. Acta* **5**, 688, 1923. — 9) *Abderhalden*, *Biochem. Handlexik.* **4**, 1108, 1911; *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, *Chem. Analyse* 1902, S. 72. — 10) *Diese Zeitschr.* **54**, 297, 1913. — 11) Ebendasselbst **15**, 105, 1909; *Ergebn. d. Physiol.* **8**, 254, 1909.

Untersuchungen zur „Löslichkeit der Harnsäure“. II.

Von

Karl Harpuder.

(Aus der medizinischen Klinik Kiel.)

(Eingegangen am 9. April 1924.)

In der vorhergehenden Arbeit war gezeigt worden, daß die Löslichkeitskurve der Harnsäure in Acetat- und Lactat- einen anderen Verlauf nimmt als in Phosphatpuffern, ohne daß freilich die Divergenz eine sehr grobe ist. Wir hatten dort bloß auf die Tatsache hingewiesen und möchten jetzt näher darauf eingehen. Die Acetatkurve liegt bei allen stärker sauren Werten als $p_H = 5,82$ höher als die Phosphatkurve, über die Werte größer als 5,82 läßt sich kaum etwas vermuten, weil der Bereich der Acetat-Harnsäuremischung nicht über 6,18 hinausgeht. Die Acetatkurve hat ferner bei p_H etwa $= 3,0$ ein Minimum und steigt dann wieder an. Angesichts unserer Versuchsanordnung muß es sich um eine Wirkung des Acetations auf die Löslichkeit der Harnsäure handeln, die nicht vom Massenwirkungsgesetz abhängt. Doch läßt sich bloß an Hand der Löslichkeitskurven nur wenig über die Art dieses Einflusses aussagen. Da die Abweichung der Acetatwerte von den Phosphatwerten gerade bei stärker saurer Reaktion deutlich ist, bei der die Uratkonzentration gering sein muß, scheint es eher wahrscheinlich, daß der Anioneneinfluß sich auf die freie Harnsäure bezieht.

Es fragt sich nun, ob nicht bei anderer Versuchsanordnung die eventuellen Unterschiede in der Wirkung der Anionen auf die Harnsäurelöslichkeit deutlicher zutage treten. Wünschenswert erschien eine stärkere Konzentration der Pufferanionen gegenüber dem Harnsäurekomplex, eine längere Versuchsdauer, weil die Anionenwirkung weniger in einer Veränderung der Löslichkeitsgrenze als in der Dauer der Löslichhaltung zum Ausdruck kommen konnte; endlich war zu überlegen, ob nicht bei sauren Reaktionsgemischen das p_H eines beginnenden Harnsäureausfalls ein viel empfindlicherer Anzeiger der Löslichkeitsbeeinflussung sein würde als die gelöste Menge. Wir verwendeten daher konzentriertere Puffergemische — zunächst wieder Natriumphosphat, Natriumacetat - Essigsäure, Natriumlactat - Milch-

säure — mit konstanter Konzentration des Kations, übersättigten sie mit immer der gleichen Menge Harnsäure und untersuchten nach 36 Stunden, bei welchem p_H eben ein einwandfreier Ausfall von Harnsäure — sei es als freie Säure, sei es als Salz — erfolgte, unter Verzicht auf Feststellung der maximalen Löslichkeit.

Methode.

Die Untersuchungen erfolgten in Ansätzen zu je 40 ccm. Die getrocknete Harnsäure wurde in den alkalischen Pufferanteilen — also in sekundärem Natriumphosphat, Natriumacetat, Natriumlactat — möglichst konzentriert in abgewogener Menge durch Erwärmen gelöst. Nun erfolgte die Zusammensetzung der Gemische aus dem harnsäurehaltigen Teil, so daß der Ansatz 10 oder 15 mg Harnsäure in 40 ccm enthielt, und aus dem harnsäurefreien alkalischen und sauren Pufferanteil bis zu dem gewünschten Verhältnis von alkalischer zu saurer Komponente, wobei die Konzentration der Na^+ konstant bleiben mußte. Die einzelnen Zahlen können aus den Protokollen entnommen werden. Der Harnsäuregehalt des endgültigen Gemisches, das durch Auffüllen mit Wasser auf 40 ccm gebracht wurde, wurde kolorimetrisch mit Phosphorwolframsäure und Cyannatrium kontrolliert. Die Ansätze wurden bei 37° eine Viertelstunde geschüttelt und dann 36 Stunden ruhig im Thermostaten von 37° stehengelassen; danach wurde ein etwa vorhandener Niederschlag abfiltriert und im Filtrat die Harnsäure wieder kolorimetrisch bestimmt. In einem zweiten Teil des Filtrats wurde p_H mit der Gaskette gemessen.

Protokoll 1.

Primäres und sekundäres Natriumphosphat.

Konzentration der Harnsäure = 25 mg-Proz., des Na = etwa 80 Millimol im Liter.

Puffergemisch	Endgültiges p_H	Niederschlag nach 36 Std.	Kolorimetrisch im Filtrat g pro Liter	H U-Proz. : U'-Proz.
4,80 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,15 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	8,30	0	0,250	0,2 : 99,8
4,80 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,30 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	—	0	0,250	
4,80 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,60 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	7,60	0	0,226	1,1 : 98,9
4,30 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,10 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	—	0	0,226	
3,9 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,9 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	6,88	++	0,130	5,5 : 94,5
3,2 ccm m/3 Na_2HPO_4 3,2 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	6,79	++	0,080	6,6 : 93,4

Konzentration der Harnsäure = 37,5 mg/Proz., des Na = etwa 80 Millimol im Liter.

Puffergemisch	Endgültiges p_H	Niederschlag nach 36 Std.	Kolorimetr. im Filtrat n. 36 Std. g pro Liter	HU:Proz. : U':Proz.
4,80 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,15 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	8,16	0	0,375	0,3 : 99,7
4,80 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,30 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm				
4,80 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,60 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	7,39	0	0,375	1,8 : 98,2
4,30 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,10 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm				
3,90 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,90 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	6,95	0	0,375	4,7 : 95,3
3,2 ccm m/3 Na_2HPO_4 3,2 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm				
2,40 ccm m/3 Na_2HPO_4 4,80 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	6,41	++	0,095	14,50 : 85,50

In anderen Versuchen bei gleicher Pufferkonzentration wurde die Ausfällung der Harnsäure bei p_H 6,84, p_H 6,89, p_H 6,77 angetroffen.

Protokoll 2.

Natriumacetat und Essigsäure.

Puffergemisch	Endgültiges p_H	Niederschlag nach 36 Std.	Kolorimetr. im Filtrat n. 36 Std. g	HU:Proz. : U':Proz.
6 ccm n/2 Na-Acetat 9,6 ccm n/10 Essigs. Wasser ad 40 ccm	5,22	0	0,250	72,4 : 27,6
6 ccm n/2 Na-Acetat 19,2 ccm n/10 Essigs. Wasser ad 40 ccm				
6 ccm n/2 Na-Acetat 3,8 ccm n/1 Essigs. Wasser ad 40 ccm	4,71	++	0,050	87,1 : 12,9
6 ccm n/2 Na-Acetat 7,6 ccm n/1 Essigs. Wasser ad 40 ccm				
6 ccm n/2 Na-Acetat 15,2 ccm n/1 Essigs. Wasser ad 40 ccm	4,07	++	0,042	97,4 : 2,6

Man kann danach sagen, daß in Phosphatgemischen unter den gegebenen Bedingungen — konstanter Na-Gehalt von 80 Millimol pro Liter, übersättigte Harnsäurelösung, Versuchsdauer von 36 Stunden bei 37° — eine Niederschlagsbildung von Harnsäure bei Reaktionen alkalischer als p_H 6,9 jedenfalls nicht auftritt, dagegen von p_H 6,8 an sich deutlich einstellt. Für die Konzentration der Harnsäure scheint die Empfindlichkeit nicht sehr groß zu sein, da der Ausfall bei 25 mg-Proz. und 37,5 mg-Proz. ungefähr gleich erfolgt.

Die Konzentration des Na beträgt hierbei 75 Millimol, die der Harnsäure 25 mg-Proz. In weiteren Versuchen wurde der Harnsäureausfall bei p_H 4,92, p_H 4,87, p_H 4,97 festgestellt. Auch hier war die Erhöhung der Harnsäurekonzentration auf 37,5 mg-Proz. ohne merklichen Einfluß auf die Reaktion des beginnenden Ausfalls.

Protokoll 3.

Natriumlactat und Milchsäure.

Konzentration der Harnsäure 25 mg-Proz., des Na 75 Millimol pro Liter.

Puffergemisch	Endgültiges p_H	Niederschlag nach 36 Std.	Kolorimetr. im Filtrat n. 36 Std. g	HU-Proz. : U'-Proz.
6 ccm n/2 Na-Lactat 0,6 ccm n/20 Milchs. Wasser ad 40 ccm	4,47	0	0,231	93,7 : 8,3
6 ccm n/2 Na-Lactat 1,2 ccm n/21 Milchs. Wasser ad 40 ccm		0	0,222	
6 ccm n/2 Na-Lactat 2,4 ccm n/20 Milchs. Wasser ad 40 ccm		0	0,237	
6 ccm n/2 Na-Lactat 4,8 ccm n/20 Milchs. Wasser ad 40 ccm	4,25	0	0,222	96,1 : 3,9
6 ccm n/2 Na-Lactat 9,6 ccm n/20 Milchs. Wasser ad 40 ccm	4,19	+	0,106	96,5 : 3,5
6 ccm n/2 Na-Lactat 6 ccm n/1 Milchsäure Wasser ad 40 ccm	3,32	+	0,100	99,5 : 0,5
6 ccm n/2 Na-Lactat 32 ccm n/1 Milchsäure Wasser ad 40 ccm	2,58	++	0,083	99,9 : 0,1

Unter gleichen Versuchsbedingungen wurde zu anderen Zeiten der Ausfall bei p_H 4,14, p_H 4,08, p_H 4,10 beobachtet. Eine Abänderung in der Harnsäurekonzentration wurde nicht vorgenommen.

Aus den Protokollen geht hervor, daß der Ausfall der Harnsäure in Phosphatgemischen bei p_H = etwa 6,8, in Acetatgemischen bei p_H = etwa 4,9, in Lactatpuffern bei p_H = etwa 4,2 beginnt, wenn auch die Löslichkeitsbedingungen für die Harnsäure im ganzen konstant

gehalten werden und nur das Anion wechselt. Es kann sich also nur um eine Einwirkung der Salzanionen oder der undissoziierten Puffersäuren auf die Löslichkeit der Harnsäure handeln, und es geht nun darum, über die Art dieses Einflusses näheren Aufschluß zu gewinnen. Berechnet man zunächst für die Phosphatgemische auf bekannte Art das Verteilungsverhältnis HU (freie, undissoziierte Harnsäure): U' (Urationen), so ergibt sich bei p_H 6,8: 6,5 Proz. HU und 93,5 Proz. U'. Gelöst sind 0,250 g Harnsäure im Liter, die sich teilen würden in 0,016 g HU und 0,234 g U' (= 0,290 g Natriumurat). Im Gemisch befinden sich weiter 80 Millimol Na pro Liter, bei einem mittleren Dissoziationsgrad der Phosphate von 0,8 = 64 Millimol Na^+ . Die Löslichkeit des Natriumurats beträgt bei 37° 6,73 Millimol im Liter mit einem Dissoziationsgrad von 0,933. Es ist

$$[Na^+] \cdot [U'] = 64 x = (0,933 \cdot 6,73)^2,$$

wobei x die durch den Na^+ -Überschuß reduzierte Konzentration der Urationen ist. $x = 0,61$ Millimol = 0,102 g U' = 0,127 g Natriumurat. Zu dieser Löslichkeit des dissoziierten Natriumurats kommt die der undissoziierten Moleküle mit 0,094 g, die gesamte Löslichkeit beträgt also 0,221 g. In unserem Gemisch befinden sich 0,290 g Natriumurat, und es ist damit durchaus verständlich, daß es in der mit Natriumurat übersättigten Lösung zum Ausfall von Natriumurat und damit auch von Harnsäure kommt, wenn das Gemisch lange genug steht. Unverständlich bleibt es dagegen vorläufig, warum es in den stärker alkalischen Gemischen, in denen die Übersättigung des Natriumurats sogar noch etwas stärker sein muß, nicht zum Ausfall kommt, und warum der Ausfall bis unter die Grenze der normalen, stabilen Löslichkeit heruntergeht.

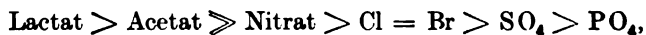
Wie wollen nun zunächst die Verhältnisse in den Acetat- und Lactatpuffern verfolgen. Der Niederschlag von Harnsäure tritt in Essigsäuregemischen ein bei p_H etwa 4,9, bei welcher Reaktion 83 Proz. freie Harnsäure und 17 Proz. Urat nebeneinander bestehen können. Die gelösten 0,250 g würden sich also in 0,207 g Harnsäure und 0,043 g Urationen verteilen, es ist eine starke Übersättigung mit Harnsäure vorhanden, und der Ausfall erfolgt annähernd bis zum echten Löslichkeitswert. Bei der Reaktion p_H 5,2 ist das Harnsäure-Essigsäuregemisch noch stabil (wenigstens für 36 Stunden), dabei sind hier 72 Proz. = 0,180 g freie Harnsäure, ungefähr das Dreifache des normalen Löslichkeitswertes, vorhanden. Im Milchsäurepuffer beginnt die Ausfällung der Harnsäure bei p_H 4,2 mit 96,5 Proz. freier Harnsäure = 0,241 g und 3,5 Proz. Urat = 0,009 g. Mit 0,240 g Harnsäure ist die Lösung für 36 Stunden noch fast stabil. Ein Ausfall bis ungefähr zur wahren Löslichkeitsgrenze tritt erst bei p_H etwa 2,6 auf.

Angesichts dieser unerwartet starken Differenz zwischen den einzelnen Anionen bezüglich der „Löslichhaltung“ der Harnsäure — dieser Ausdruck bezeichnet das vorliegende Verhalten unvoreingenommen und am besten — interessierte es, den *Einfluß weiterer Anionen* zu prüfen. Da Na-Salze genommen werden mußten, erschien es vorteilhaft, Acetatgemische mit Neutralsalzen starker Säuren zu kombinieren, weil dabei die Na⁺-Vermehrung wegen der geringen Menge Natriumurat keinen sehr erheblichen Eindruck auf die Ausfallsreaktion machen konnte. Die Acetat-Essigsäurekonzentration wurde erheblich reduziert, die Konzentration der Neutralsalze sehr hoch gewählt. Harnsäurekonzentration 25 mg-Proz. (Protokoll 4, S. 361).

Der Ausfall der Harnsäure beginnt bei Zusatz verhältnismäßig großer, äquimolekularer Mengen von NaCl, NaNO₃, Na₂SO₄·2NaBr zum Acetattpuffer bei ungefähr gleicher Reaktion wie im reinen Acetatgemisch. Wir untersuchten daher das Verhalten der gleichen Salze im Phosphatpuffer (Protokoll 5, S. 361).

Die Konzentration des Puffers ist wieder stark verdünnt, die Salzkonzentration hoch gewählt, die Harnsäurekonzentration beträgt 25 mg-Proz. Die Menge der Na⁺ in den Lösungen ist so groß, daß das Urat als fast vollständig undissoziiert zu betrachten und seine Löslichkeit also stark gesunken ist. Trotzdem sehen wir eine Verschiebung der Ausfallsreaktion ins Saure, beim Sulfat, Chlorid und Bromid nicht sehr erheblich, wenn schon deutlich, beim Nitrat recht beträchtlich.

Ordnet man die Anionen nach der Reaktion, bei der in ihrer Gegenwart die Harnsäure unter den von uns gewählten Bedingungen ausfällt, so erhält man vom Säuren her die Reihe



die ungefähr der *Hofmeisterschen* Reihe entspricht und damit nach den neueren Ansichten der Lyophilie der Ionen, die beim Sulfat größer ist als beim Chlorid. Die Bedeutung dieser Anionenordnung ist allerdings noch zweifelhaft, da Analogien für die Löslichhaltung schwer löslicher Säuren und Salze fehlen und es fraglich erscheint, ob die Wirkung von Phosphat gegenüber einem Gemisch von überwiegend Urat und wenig Harnsäure in Beziehung gesetzt werden darf zur Wirkung von Lactat auf fast reine, undissoziierte Harnsäure.

Nachdem derart die Anionen auf ihre Bedeutung für die Fällungsreaktion der Harnsäure durchuntersucht waren, lag es nahe, sich auch der gleichen Untersuchungsmethode für verschiedene Kationen zu bedienen. Zunächst variierten wir die Konzentration der Na⁺-Ionen in unseren Puffern bis zu einem Gehalt von 160 Millimol pro Liter, ohne dabei eine deutliche Veränderung des Harnsäureausfalls zu er-

Protokoll 4. Acetatspuffer mit Neutralsalzen.

Puffer	+ NaCl (0,25 Mol pro Liter)	+ NaNO ₃ (0,25 Mol pro Liter)	+ Na ₂ SO ₄ (0,125 Mol pro Liter)	+ NaBr (0,25 Mol pro Liter)
1,6 ccm n/2 Na-Acetat 3,0 ccm n/10 Essigsäure Wasser ad 40 ccm	p_H 5,09 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,230 g	p_H 5,09 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,226 g	p_H 4,93 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,232 g	p_H 5,03 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,226 g
1,6 ccm n/2 Na-Acetat 5 ccm n/10 Essigsäure Wasser ad 40 ccm	p_H 4,88 Niederschlag + Kolorimetr. 0,130 g	p_H 4,79 Niederschlag + Kolorimetr. 0,082 g	p_H 4,77 Niederschlag + Kolorimetr. 0,130 g	p_H 4,79 Niederschlag + Kolorimetr. 0,125 g
1,6 ccm n/2 Na-Acetat 15 ccm n/10 Essigsäure Wasser ad 40 ccm	p_H 4,89 Niederschlag + Kolorimetr. 0,080 g	p_H 4,52 Niederschlag + Kolorimetr. 0,075 g	p_H 4,40 Niederschlag + Kolorimetr. 0,080 g	p_H 4,42 Niederschlag + Kolorimetr. 0,075 g

Protokoll 5. Phosphatspuffer mit Neutralsalzen.

Puffer	+ NaCl (0,25 Mol pro Liter)	+ Na ₂ SO ₄ (0,125 Mol pro Liter)	+ NaNO ₃ (0,25 Mol pro Liter)	+ NaBr (0,25 Mol pro Liter)
2,0 ccm m/3 Na ₂ HPO ₄ 0,6 ccm m/3 NaH ₂ PO ₄ Wasser ad 40 ccm	p_H 7,25 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,250 g	p_H 7,27 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,235 g	p_H 7,20 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,244 g	p_H 7,21 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,250 g
1,6 ccm m/3 Na ₂ HPO ₄ 0,8 ccm m/3 NaH ₂ PO ₄ Wasser ad 40 ccm	p_H 6,74 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,226 g	p_H 6,84 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,215 g	p_H 6,79 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,227 g	p_H 6,74 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,220 g
1,2 ccm m/3 Na ₂ HPO ₄ 1,2 ccm m/3 NaH ₂ PO ₄ Wasser ad 40 ccm	p_H 6,50 Niederschlag + Kolorimetr. 0,165 g	p_H 6,61 Niederschlag + Kolorimetr. 0,130 g	p_H 6,56 Niederschlag 0 Kolorimetr. 0,232 g	p_H 6,50 Niederschlag + Kolorimetr. 0,100 g
0,8 ccm m/3 Na ₂ HPO ₄ 1,6 ccm m/3 NaH ₂ PO ₄ Wasser ad 40 ccm	p_H 6,28 Niederschlag + Kolorimetr. 0,150 g	p_H 6,27 Niederschlag + Kolorimetr. 0,095 g	p_H 6,30 Niederschlag (+) Kolorimetr. 0,214 g	p_H 6,31 Niederschlag + Kolorimetr. 0,085 g
0,4 ccm m/3 Na ₂ HPO ₄ 2,0 ccm m/3 NaH ₂ PO ₄ Wasser ad 40 ccm	p_H 5,96 Niederschlag + Kolorimetr. 0,080 g	—	p_H 5,93 Niederschlag + Kolorimetr. 0,170 g	—

Protokoll 6.

Acetattpuffer mit verschiedenem Kation.

Puffer	Kalium	Lithium	Calcium	Magnesium	Barium
2 ccm n/2 Acetat + 1,6 ccm n/10 Essigs. Wasser ad 40 ccm	—	—	p _H 5,52 Niederschlag + Kolorim. 0,120 g	p _H 5,17 Niederschlag 0 Kolorim. 0,228 g	p _H 5,37 Niederschlag + Kolorim. 0,125 g
2 ccm n/2 Acetat 3,2 ccm n/10 Essigsäure Wasser ad 40 ccm	p _H 5,12 Niederschlag 0 Kolorim. 0,250 g	p _H 5,20 Niederschlag 0 Kolorim. 0,250 g	p _H 5,19 Niederschlag + Kolorim. 0,080 g	p _H 5,00 Niederschlag 0 Kolorim. 0,228 g	p _H 5,15 Niederschlag + Kolorim. 0,150 g
2 ccm n/2 Acetat 6,4 ccm n/10 Essigsäure Wasser ad 40 ccm	p _H 4,89 Niederschlag + Kolorim. 0,106 g	p _H 4,78 Niederschlag + Kolorim. 0,100 g	p _H 4,85 Niederschlag + Kolorim. 0,035 g	p _H 4,73 Niederschlag + Kolorim. 0,120 g	p _H 4,89 Niederschlag + Kolorim. 0,150 g
2 ccm n/2 Acetat 12,8 ccm n/10 Essigs. Wasser ad 40 ccm	p _H 4,71 Niederschlag + Kolorim. 0,080 g	p _H 4,52 Niederschlag + Kolorim. 0,050 g	—	p _H 4,38 Niederschlag + Kolorim. 0,100 g	p _H 4,50 Niederschlag + Kolorim. 0,125 g
2 ccm n/2 Acetat 25,6 ccm n/10 Essigs. Wasser ad 40 ccm	—	—	—	p _H 4,21 Niederschlag + Kolorim. 0,055 g	—
2 ccm n/2 Acetat 5,2 ccm n/1 Essigsäure Wasser ad 40 ccm	—	—	p _H 3,81 Niederschlag + Kolorim. 0,035 g	—	—

zielen. Dies ist gut verständlich bei Acetat- und Lactatpuffern, in denen fast nur freie Harnsäure vorhanden ist, dagegen muß in Phosphatpuffern der Übersättigungsgrad des Urats zunehmen. Weiter verwendeten wir verschiedene Kationen der Alkali- und Erdalkaligruppe als Acetate (Protokoll 6, S. 362).

Die Harnsäurekonzentration beträgt wieder 25 mg-Proz. Da die Erdalkalisalze der Harnsäure äußerst schwer löslich sind, war es unmöglich, wie sonst die Harnsäure im Acetat zu lösen, sondern sie mußte mit möglichst wenig Natronlauge in übersättigte Lösung gebracht und so zu den fertigen Puffergemischen gefügt werden. Es sind also in den Erdalkalipuffern auch Na^+ vorhanden, wodurch die Übersicht leider noch weiter erschwert wird. In Kalium- und Lithiumacetat ist die Ausfallsreaktion praktisch die gleiche wie in Natriumacetat. Auch das Magnesiumacetat unterscheidet sich kaum, dagegen ist bei Anwesenheit von Barium- und Calciumionen der Niederschlag bei wesentlich alkalischerer Reaktion zu beobachten, nämlich bei p_{H} 5,15 bzw. p_{H} 5,37.

Die *Deutung der ganzen bisherigen Versuchsergebnisse* bietet sehr große Schwierigkeiten. Am leichtesten lassen sich brauchbare Vorstellungen für die Essigsäure- und Milchsäuregemische gewinnen. Durch die älteren Untersuchungen von *Scaffidi*, durch die neuen von *Jung* und durch unsere eigenen Kurven für die Grenzwerte der Harnsäurelöslichkeit war es wahrscheinlich geworden, daß die Essigsäure eine abnorm hohe Löslichkeit der freien, nicht dissoziierten Harnsäure bewirkt. Die eben wiedergegebenen Versuche sind ein Maß dafür, wie weit die Essigsäure und Milchsäure oder ihre Anionen eine unter günstigeren Löslichkeitsbedingungen herbeigeführte, konzentrierte Lösung der Harnsäure — in reinem Natriumacetat lösen sich 0,260 g „Harnsäure“ bei p_{H} 6,18 — unter den ungünstigeren Bedingungen der wachsenden $[\text{H}^+]$ in Übersättigung zu erhalten vermag. Die wachsende $[\text{H}^+]$ bewirkt, daß mehr und mehr gelöstes Urat in gelöste, undissoziierte Harnsäure übergeht, und es scheint so, als ob *diese nun einmal schon gelöste Harnsäure bei Gegenwart von Essigsäure und Milchsäure relativ lange in sehr starker Übersättigung bestehen kann*, wogegen die gleichen Säuren Harnsäure bei Gegenwart von Bodenkörper nur wenig, wenn auch deutlich, über den normalen Wert hinaus zu lösen vermögen. *Es besteht damit eine Divergenz zwischen Löslichkeit der Harnsäure bei Gegenwart von Essigsäure bzw. Milchsäure und ihrer Löslichkeit in einer schon vorhandenen, unter günstigeren Bedingungen entstandenen Lösung.* Über das Wesen der Anionenwirkung können sichere Angaben nicht gemacht werden. Es lag sehr nahe, an die Bildung komplexer Salze zu denken, wie sie z. B. von *Pfeifer* für Aminosäuren und Neutralsalze nachgewiesen wurden, aber schon die geringe Steigerung der Löslichkeit der Harnsäure machte eine derartige Annahme

bedenklich, und es gelang trotz vieler Bemühungen unter den verschiedensten Bedingungen nicht, mit Essigsäure und Acetat, Milchsäure und Lactat, Oxalsäure und Oxalaten einerseits und Harnsäure andererseits Komplexsalze kristallinisch zu erhalten. Das beweist natürlich nichts gegen ihre Existenzfähigkeit, jedenfalls ist aber ihre Annahme danach nicht mehr so befriedigend, wie es zunächst scheint. Vielleicht ist die Vorstellung am nützlichsten, freilich nur im Sinne einer Arbeitshypothese, daß Harnsäure und Essigsäure sich nach Art einer reversiblen Reaktion zu einem leicht zerfallenden Aggregat zusammenlagern mit einem Gleichgewicht, das bei der Sättigungskonzentration der Harnsäure sehr zuungunsten des neuen Gebildes liegt, mit steigender Harnsäurekonzentration sich aber stark zu seinen Gunsten verschiebt.

Kommt man damit einem Verständnis für die Löslichhaltung der Harnsäure durch Essigsäure und Milchsäure näher, so ist aber noch nichts für die Verhältnisse bei den *Phosphatpuffern* gewonnen. Wir hatten gesehen, daß bei der Ausfallsreaktion p_H 6,8 eine übersättigte Uratlösung bestand, die selbstverständlich allmählich ihrem Sättigungswert zustreben kann, aber es war unklar geblieben, warum bei stärker alkalischer Reaktion die Ausfällung unterbleibt, obwohl dadurch nur das Verteilungsverhältnis Harnsäure—Urat sich zugunsten des letzteren verschiebt und damit eine freilich nicht sehr erheblich stärkere Uratübersättigung eintritt. Mit stärker saurer Reaktion nimmt die Übersättigung des Urats ab, ohne aber den wahren Löslichkeitswert zu erreichen, bevor der der freien Harnsäure auftritt: die Ausfallstendenz ist hier weiter erklärlich. Diese frappante Anomalie in der Löslichhaltung der Urate besteht nun nicht nur in Phosphatgemischen. *Schade* gibt an, daß eine stark übersättigte „Harnsäure“-lösung (0,5 Proz. mit $n/10$ NaOH in der Siedehitze in Lösung gebracht, gegen Neutralrot neutralreagierend) allein und bei Zusatz von 0,1 ccm $n/100$ HCl für 12 Stunden stabil ist, während sie bei Zusatz von 0,25 ccm $n/100$ HCl nach 12 Stunden eine Spur, nach 3 Tagen einen kristallinischen Niederschlag erkennen läßt. Die Reaktion betrug in dem Gemisch mit 0,1 ccm $n/100$ HCl $[H^+] = 0,126 \cdot 10^{-6}$, also $p_H = 6,9$. Da es sich um ein stark gepuffertes System handelt, dürfte die nicht gemessene Reaktion bei 0,25 ccm $n/100$ HCl um p_H 6,8 gewesen sein. Mit 0,5 ccm $n/100$ HCl trat nach 12 Stunden schon ein deutlicher Niederschlag auf. Diese Resultate sind den unseren einigermaßen parallel, es ist damit höchst wahrscheinlich, daß die Löslichhaltung der Harnsäure in Phosphatpuffern vom Phosphation unabhängig ist. Es fragt sich nur, was sich denn eigentlich bei der Reaktion p_H 6,8 bis 6,7 in den Harnsäurelösungen ändert. *Schade* nimmt an, daß bei dieser Acidität die Harnsäure die Neigung bekommt, sich in kolloidaler Form zu lösen. Wir wollen hier auf die *Schadeschen* Ansichten nicht eingehen, meinen aber

daß bei den von uns verwendeten, mäßigen Übersättigungsgraden und bei unserer Herstellung der Harnsäurelösung in reinem Dinatriumphosphat mit einer deutlich alkalischen Reaktion, die außerhalb der Kolloidbegünstigungszone *Schades* liegt, die Anwesenheit kolloidal gelöster Harnsäure ausgeschlossen werden kann, um so mehr, als wir nie ein Zeichen dafür in der Lösung oder beim Ausfall beobachten konnten. Dagegen erscheint uns eine andere Erwägung nötig. Die Harnsäure ist eine zweibasische Säure, es fragt sich, ob nicht die Bildung von Dinatriumurat die Löslichkeit des Mononatriumurats beeinflusst. Berechnen wir das Verteilungsverhältnis von $HU : U' : U''$ in Abhängigkeit von der $[H']$, so ergibt sich:

$$\frac{[H_2U]}{[HU']} = \frac{1}{k_1} \cdot [H'], \quad (1)$$

$$\frac{[HU']}{[U'']} = \frac{1}{k_2} \cdot [H'] \quad (2)$$

und weiter

$$[H_2U] + [HU'] + [U''] = 1. \quad (3)$$

Darin bedeutet H_2U die undissoziierte freie Harnsäure, HU' das primäre Uration mit undissoziiertem zweiten Wasserstoffion und U'' das sekundäre Uration mit dissoziiertem zweiten H' ; ferner k_1 die erste Dissoziationskonstante der Harnsäure = etwa $2,0 \cdot 10^{-6}$ und k_2 die zweite Dissoziationskonstante der Harnsäure = $2,6 \cdot 10^{-9}$ (*Kanitz*). Ersetzt man in der dritten Gleichung H_2U und U'' aus den beiden ersten Gleichungen, so ist

$$[HU'] + [HU'] \cdot \frac{[H']}{k_1} + [HU'] \cdot \frac{k_2}{[H']} = 1,$$

und für $p_H = 6,8$ findet man nach Einsetzen der entsprechenden Werte

$$[HU'] = 1 : 1,085 = 0,92.$$

Bei $p_H 6,8$ sind also 92 Proz. der gelösten Harnsäure als primäres Urat vorhanden. Bei $p_H 7,0$ beträgt die HU' -Konzentration 93,5, bei $p_H 6,7$ 91 Proz. Der Harnsäurerest verteilt sich folgendermaßen: multipliziert man Gleichung (1) mit Gleichung (2), so erhält man

$$\frac{H_2U}{U''} = \frac{1}{k_1} \cdot \frac{1}{k_2} \cdot [H']^2,$$

und danach ist vom Rest bei $p_H 6,7$: 91 Proz. H_2U und 9 Proz. U'' , bei $p_H 6,8$: 82 Proz. H_2U und 18 Proz. U'' , bei $p_H 7,0$: 64 Proz. H_2U und 36 Proz. U'' . Die Menge der sekundären Urationen ist also etwa von $p_H 6,7$ merklich und nimmt mit steigender Alkaleszenz rasch zu.

Das primäre Uration ist aber nach wie vor auch bei $p_H 7,0$ usw. übersättigt, da es immer etwa 90 Proz. der gesamten Harnsäure aus-

macht. Man kann nun das Auftreten des sekundären Urats und die Löslichkeit des übersättigten, primären als zufälliges Zusammentreffen betrachten und muß dann für die letztere wohl eine neue Zustandsform etwa im Sinne *Schades* annehmen, oder man kann folgende Überlegungen anstellen: In der übersättigten Lösung ist der osmotische Druck größer als der Lösungsdruck des Urats, und dieses Ungleichgewicht sucht sich in das Gleichgewicht der gesättigten Lösung zu verwandeln, in der Lösungsdruck gleich osmotischem Druck ist. Andererseits ist es nach dem wiederholt Erörterten nötig, daß mit dem Urat auch Harnsäure und sekundäres Urat ausfällt, wenn sich p_H nicht ändert, und dessen Konstanz ist durch den Phosphatpuffer oder durch die Selbstpufferung des Uratgemisches zunächst einmal gewährleistet – oder daß sich das Gleichgewicht Harnsäure – primäres Urat – sekundäres Urat in ein Ungleichgewicht verwandelt. Den letzteren Fall wollen wir außer acht lassen, da er zur Berechnung nicht geeignet ist. Beim Ausfallen einer übersättigten Lösung wird Energie frei, und zwar wird ihr Betrag so groß sein, wie wenn die Übersättigung durch Verdünnung beseitigt worden wäre, d. h. pro Mol

$$A = RT \ln \frac{c_2}{c_1},$$

worin R die Gaskonstante 0,0821, T die absolute Temperatur, c_2 die molekulare Konzentration der übersättigten, c_1 die der gesättigten Lösung bedeutet. Man erhält hieraus

$$A = \frac{RT}{0,4343} \log \frac{c_2}{c_1}$$

und unter Einsetzen der entsprechenden Werte für unseren Fall p_H 6,8:

$$c_2 = \frac{0,250 \cdot 0,9}{168} = 1,36 \text{ Millimol pro Liter.}$$

$$c_1 = 1,07 \text{ Millimol pro Liter (siehe S. 359).}$$

$$A_1 = \frac{RT}{0,4343} \cdot \log \frac{1,36}{1,07} = \frac{RT}{0,4343} \log 1,27 \left(= \frac{RT}{0,4343} \cdot 0,10380 \right).$$

Wenn nun Harnsäure oder sekundäres Urat mit ausfallen sollten, so wäre dies nur möglich unter Aufwand von Arbeit, deren Betrag sich nach der nötigen Konzentrationsvermehrung bis zur Sättigung richtet. Es ist wieder

$$- A = \frac{RT}{0,4343} \log \frac{c_2}{c_1}$$

und

$$c_2 = \frac{0,060}{168} = 0,35 \text{ Millimol pro Liter.}$$

$$c_1 = \frac{0,010}{168} = 0,122 \text{ Millimol pro Liter.}$$

$$-A_2 = \frac{RT}{0,4343} \log \frac{0,35}{0,122} = \frac{RT}{0,4343} \log 2,90 \left(= \frac{RT}{0,4343} \cdot 0,46240 \right).$$

Die gewinnbare (A_1) und die zur Ausfällung der Harnsäure benötigte Energie A_2 liegen also in gleicher Größenordnung. Nun ist aber noch zur Ausfällung des leicht löslichen Diurats Arbeit zu leisten, für die in dem System keine Energie vorhanden ist. *Die durch Aufhebung des Übersättigungsungleichgewichts verfügbare Arbeit ist kleiner als die gleichzeitig auf Harnsäure und Diurat zu verwendende Arbeit, und damit ist das primäre Urat verurteilt, in Übersättigung zu bleiben, der Zustand des Ungleichgewichts ist stabilisiert.* Bei stärker saurer Reaktion als p_H 6,8 bis 6,7 verschwindet das Diurat, gleichzeitig nimmt A_2 infolge Anwachsens von $c_1(2)$ schneller ab als A_1 infolge Absinkens von $c_2(1)$, und das ganze System hat die Möglichkeit, sich so zu verändern, daß das Ungleichgewicht der Uratübersättigung in das Gleichgewicht der Uratsättigung übergeht.

Die Schlußfolgerung aus den ganzen Erörterungen ist: *Die Ausfallsreaktion der „Harnsäure“ im Phosphatpuffer bei p_H etwa 6,8 ist unabhängig von der Phosphorsäure und dadurch bedingt, daß bei saurerer Reaktion das Dinatriumurat verschwindet, dessen Anwesenheit neben der freien Harnsäure die Löslichhaltung übersättigter „Harnsäure“, besser Uratlösungen bewirkt.*

Damit ist ein gutes Verständnis für das ursprünglich so rätselhafte Verhalten der Harnsäure in Phosphatpuffern gewonnen. Auch die relative Unabhängigkeit der Ausfallsreaktion von der Konzentration der Harnsäure und der Na^+ ist erklärlich. Die Wirkung der Na-Salze starker Säuren ist vielleicht als reiner Neutralsalzeinfluß zu deuten mit Ausnahme vielleicht des Natriumnitrats, das mit einem Fällungs- p_H von etwa 6,0 schon die Löslichhaltung der undissoziierten Harnsäure ähnlich wie Acetat-Essigsäure begünstigen könnte. Auch die Wirkung der verschiedenen Kationen in Acetatpuffern ist zu verstehen. Die Ausfallsreaktion hängt bei K, Li, Mg nur vom Grade der Harnsäureübersättigung ab, wogegen Barium- und Calciumurat so schwer löslich sind, daß sie für sich ausfallen, wodurch die Ausfalls-[H'] an das alkalische Ende der Beobachtungsreihe verschoben wird.

Endlich interessierte es uns, ob auch Nichtelektrolyte imstande wären, die Ausfallsreaktion der Harnsäure zu verändern. Die Möglich-

Protokoll 7.

Molekulardisperte Nichtelektrolyte in Phosphatpuffern.

Puffer	0,5 Proz. Dextrose	0,5 Proz. Harnstoff	0,5 Proz. Glykoll
1,6 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,4 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	—	p_H 7,22 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 7,29 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g
1,4 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,6 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 6,98 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 7,11 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 7,15 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g
1,0 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,0 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	— Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	— Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 6,88 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g
0,6 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,4 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 6,23 Niederschlag 0 Kolor. 0,240 g	— Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 6,30 Niederschlag 0 Kolor. 0,260 g
0,2 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,8 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	— Niederschlag 0 Kolor. 0,230 g	p_H 6,0 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 6,10 Niederschlag 0 Kolor. 0,230 g
0,2 ccm m/3 Na_2HPO_4 3,6 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 5,36 Niederschlag 0 Kolor. 0,230 g	p_H 5,57 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	—

Kolloide in Phosphatpuffern.

Puffer	0,5 Proz. Casein	0,5 Proz. Glykogen	1 Proz. Globulin
1,6 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,4 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 7,14 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g	p_H 7,15 Niederschlag 0 Kolor. 0,220 g	p_H 7,10 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g
1,4 ccm m/3 Na_2HPO_4 0,6 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 6,81 Niederschlag + Kolor. 0,125 g	p_H 6,98 Niederschlag 0 Kolor. 0,225 g	p_H 6,85 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g
1,0 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,0 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 6,41 Niederschlag + Kolor. 0,120 g	p_H 6,56 Niederschlag 0 Kolor. 0,240 g	— Niederschlag 0 Kolor. 0,230 g
0,6 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,4 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 6,18 Niederschlag + Kolor. 0,100 g	p_H 6,42 Niederschlag 0 Kolor. 0,220 g	— Niederschlag 0 Kolor. 0,230 g
0,2 ccm m/3 Na_2HPO_4 1,8 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	p_H 5,80 Niederschlag + Kolor. 0,060 g	p_H 5,80 Niederschlag 0 Kolor. 0,230 g	p_H 5,70 Niederschlag 0 Kolor. 0,240 g
0,2 ccm m/3 Na_2HPO_4 3,8 ccm m/3 NaH_2PO_4 Wasser ad 40 ccm	—	—	p_H 5,56 Niederschlag 0 Kolor. 0,250 g

keit hierzu war vorhanden, teils durch Adsorption, teils durch Bildung komplexer Verbindungen. Wir untersuchten einige biologisch wichtige molekulardisperte schwache Elektrolyte bzw. Nichtelektrolyte und einige Kolloide, beides in Phosphatpuffern. Harnsäurekonzentration 25 mg-Proz. (s. Protokoll 7).

Der Harnsäureausfall wird ins Saure verschoben durch Dextrose, Harnstoff und Glykokoll, durch Glykogen und Globulin, nicht durch Casein. Es dürfte sich dabei um adsorptive und komplexe Bindungen der undissoziierten Harnsäure handeln, da auch bei relativ niedrigem p_H noch Stabilität vorhanden ist. Für Harnstoff ist das Lösungsvermögen Harnsäure gegenüber bekannt, für Globulin die Adsorption. Casein adsorbiert Harnsäure auch, wenn es als Kation in Lösung ist, bei der Reaktion unserer Puffergemische wird es aber (als relativ starke Säure mit dem isoelektrischen Punkte bei $1,8 \cdot 10^{-5}$) als Anion oder undissoziiert in Lösung nicht adsorbieren können.

Schlußsätze.

Die in der ersten Arbeit aufgewiesene Abhängigkeit der Übersättigungskonzentration des Urats von der konstanten Löslichkeit der Harnsäure und der $[H']$ genügt zur Erklärung der relativ stabilen Lösbarkeit des Harnsäurekomplexes, erklärt aber nicht die für die Löslichhaltung gefundenen Einflüsse der $[H']$.

Es zeigt sich durch Versuche und anschließende Berechnung, daß die Löslichhaltung einer übersättigten Monouratlösung von der gleichzeitigen Anwesenheit undissoziierter Harnsäure und *Diurat* abhängt, daher erst von einem bestimmten p_H aufwärts — $> 6,7$ bis $6,8$ — möglich ist.

Die Löslichhaltung des Harnsäurekomplexes in sauren Essigsäure- und Milchsäuregemischen wird auf Übersättigung undissoziierter Harnsäure zurückgeführt, die von den Puffersäuren abhängt.

Auch Nichtelektrolyte und Kolloide vermögen die Löslichhaltung des Harnsäurekomplexes zu begünstigen.

Über die Ernährung von Pflanzen mit Aldehyden¹⁾.

V. Mitteilung:

Einfluß des Formaldehyds auf die Funktion pflanzlicher Enzyme.

Von

Th. Sabalitschka.

(Aus dem pharmazeutischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. April 1924.)

In den vorausgehenden Mitteilungen¹⁾ berichtete ich über eine Erhöhung des Zucker- und Stärkegehaltes in von Kohlensäure abgeschlossen Pflanzen durch Formaldehyd im Hellen und im Dunkeln. Ich führte diese Erhöhung auf eine Polymerisation des Formaldehyds zu höheren Kohlehydraten zurück. Es könnten nun die Einwände gemacht werden, der Formaldehyd habe bei meinen Versuchen irgend eine Reizwirkung ausgeübt oder er habe umgekehrt die Tätigkeit der Enzyme, welchen der Abbau der Kohlehydrate im Pflanzenkörper obliegt, unterbunden; man könnte auf die eine oder andere Weise den höheren Gehalt der in einer Formaldehydatmosphäre sich befindenden etiolierten Pflanzen erklären wollen. Wir wissen durch die ausgedehnten Untersuchungen von *C. Neuberg*²⁾ und weiter von *C. Neuberg* und *M. Ehrlich*³⁾, daß fast alle Aldehyde, auch der Formaldehyd, in geringen Konzentrationen kräftige Stimulantien für Fermentreaktionen sein können. Die Ergebnisse dieser Versuche veranlaßten *C. Neuberg*⁴⁾ zur Aufstellung seiner ebenso interessanten wie nach *C. Neubergs* Forschungen wohl begründeten Hypothese von der allgemeinen Aktivorenrolle der Aldehyde im Pflanzenkörper. *C. Neuberg* ist der Ansicht, daß die Pflanzen sich der Aldehyde bedienen zur Aktivierung

¹⁾ *Th. Sabalitschka*, Ber. d. deutsch. pharmaz. Ges. **32**, 278, 1922; Zeitschr. f. angew. Chem. **35**, 684, 1922; Pharmaz. Monatsh. **4**, 169, 1923; *Th. Sabalitschka* und *H. Riesenberger*, diese Zeitschr. **144**, 545, 551: 145. 373, 1924.

²⁾ Diese Zeitschr. **88**, 145, 1918.

³⁾ Ebendasselbst **101**, 239, 1920.

⁴⁾ Ebendasselbst **88**, 154, 1918; **101**, 244, 1920.

und zur Regelung ihrer fermentativen Prozesse, wodurch sie bis zu gewissen Graden unabhängig von der Temperatur werden. Im Pflanzenkörper sind die Aldehyde allgemein verbreitet, und so können sie auch wohl die Rolle von Aktivatoren des enzymatischen Auf- und Abbaues in den Pflanzen spielen. Wie der Formaldehyd den Abbau des Zuckers durch Zymase und Hefe beschleunigt, so kann er nach *C. Neuberg* auch, wenn er von der Pflanze im Assimilationsprozeß als Durchgangssubstanz gebildet wird, ein kräftiger Aktivator für die weitere Verarbeitung des über die Formaldehydstufe entstandenen Zuckers sein.

Sprechen wir nach *C. Neuberg* den Formaldehyd als ein Stimulans für enzymatische Umsetzungen im Pflanzenkörper an, und führen wir die Polymerisation des bei der Assimilation entstandenen Formaldehyds zu Zucker und Stärke auf Enzyme zurück, so kann der Formaldehyd direkt als ein Stimulans für seine eigene Polymerisation gelten. Das wäre eine schöne Zweckmäßigkeit, die auf jeden Fall das rasche Verschwinden des bei der Assimilation im Pflanzenkörper entstandenen Formaldehyds verständlich machen würde; ließ sich doch bis heute der bei der Umwandlung von Kohlensäure zu Zucker und Stärke im Pflanzenkörper als Zwischenprodukt auftretende Formaldehyd noch nicht fassen, weder von anderen Forschern noch von *H. Riesenberg* und mir, trotzdem wir uns eines sehr empfindlichen Reagens bedienten¹⁾.

Gerade *C. Neuberg* fand aber, daß Formaldehyd nicht mehr als Reizmittel wirkt, sondern Fermentreaktionen unterbindet, wenn er in etwas stärkerer Konzentration zugegen ist²⁾. Während 0,00023, 0,0023 und 0,023 Proz. Formaldehyd die Vergärung von Glucose durch Hefesaft beschleunigten, unterband eine Konzentration von 0,23 Proz. Formaldehyd die Gärung vollkommen. *Wroblewski*³⁾ stellte eine Schädigung der Gärungsenzyme des Hefepreßsaftes durch 0,05 bis 0,66 Proz. Formaldehyd fest. *H. v. Euler* und *O. Svanberg*⁴⁾ fanden, daß 0,58 g Formaldehyd in 60 ccm eine Saccharaselösung nach 15 Minuten langer Einwirkung um 30 Proz., nach 18stündiger Einwirkung fast vollständig inaktivierten. Später fanden *H. v. Euler* und *J. E. Myrbäck*⁵⁾, daß auch schon wesentlich geringere Formaldehydmengen, nämlich 18,7 mg Formaldehyd in 60 ccm Saccharaselösung die Saccharase inaktivieren und daß diese Inaktivierung zunimmt, wenn die Acidität des Reaktionsgemisches sich gegen die alkalische Seite hin

¹⁾ Diese Zeitschr. 145, 377, 1924.

²⁾ Ebendasselbst 88, 178, 1918.

³⁾ Journ. f. prakt. Chem. 64, 17, 1901.

⁴⁾ Fermentforschung 4, 58; Chem. Centralbl. 1920, III, S. 639.

⁵⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 125, 297; Chem. Centralbl. 1923, I, S. 1597.

ändert. *Effront*¹⁾ berichtet von einer sehr starken Wirkung des Formaldehyds auf Amylase, *Onodera*²⁾ von der Inaktivierung der Urease durch Formaldehyd. *C. Neuberg* und *M. Ehrlich*³⁾ stellten ferner fest, daß die Wirkung der Aldehyde auf die freien Gärungsfermente mitunter auch entgegengesetzt sein kann der Wirkung der Aldehyde auf die noch in den Organismen enthaltenen Fermente. Dies fanden die beiden Forscher beim Zimtaldehyd, während Crotonaldehyd, Önanthol, Acetaldehyd, Furfurol, Anisaldehyd, Benzaldehyd, Phenylacetaldehyd, Octylaldehyd und Decylaldehyd sowohl die zellfreie Gärung wie auch die Gärung durch lebende Hefen beschleunigten.

Die bisher erzielten Forschungsergebnisse lassen erkennen, daß Formaldehyd schon in ziemlich niedriger Konzentration die Wirkung der Enzyme mehr oder weniger unterbindet, daß dieser ungünstige Einfluß des Formaldehyds auf Enzymreaktionen aber bei noch schwächeren Konzentrationen sogar in einen fördernden übergehen kann. Der Einfluß des Formaldehyds auf die Enzyme ist aber nicht nur abhängig von der Konzentration des Formaldehyds, sondern auch von anderen Bedingungen, so von der Wasserstoffionenkonzentration. Weiter kann ein Aldehyd in gleicher Konzentration bald hemmend, bald fördernd auf Enzymreaktionen wirken, je nachdem, ob das Enzym noch im lebenden Organismus sich befindet oder aus ihm isoliert ist. Es war somit, schon mit Rücksicht auf die beiden erwähnten Einwände, die ja durch die bisherigen Forschungsergebnisse noch gestützt schienen, das Studium der Wirkung des Formaldehyds auf pflanzliche Lebensvorgänge angezeigt. Damit sollte die Frage geprüft werden, ob bei unseren früheren Formaldehydernährungsversuchen der Formaldehyd die Tätigkeit der Fermente derart beeinflußt haben kann, daß dadurch eine Polymerisation des Formaldehyds zu höheren Kohlehydraten vorgetäuscht wurde.

Ich studierte die Wirkung des Formaldehyds

- I. auf keimende Samen,
- II. auf treibende Zweige,
- III. auf Hefe.

I.

Die Wirkung von Formaldehyd auf keimende Samen wurde schon wiederholt untersucht, und zwar aus den verschiedensten Gründen. So prüfte sie *Bokorny*⁴⁾ mit Rücksicht auf die *Baeyersche* Assimilationstheorie. Er ließ Samen der Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.) unter einer Glasglocke keimen, die gegen die äußere Luft durch 30proz. Natronlauge ab-

¹⁾ *Effront*, Enzymes, S. 117.

²⁾ *Biochem. Journ.* **9**, 544, 1915; *Jacoby*, diese Zeitschr. **85**, 358, 1916.

³⁾ Diese Zeitschr. **101**, 269, 1920.

⁴⁾ Ebendasselbst **86**, 87, 1911.

gesperrt war. Zu dieser Lauge setzte er Formaldehyd in verschiedenen Mengen, nämlich 10, 2,5, 0,5, 0,25 und 0,1 Proz.; zum Vergleich ließ er die Samen unter denselben Bedingungen keimen, ohne daß aber der Lauge Formaldehyd zugesetzt war. Bei der Formaldehydkonzentration von 10 und 2,5 Proz. gingen die Keimlinge bald zugrunde; auch 0,5 Proz. wirkten noch nachteilig, erst bei 0,1 Proz. entwickelten sich die Samen ebenso wie die ohne Formaldehyd. Der Versuch ergab sogar einen Ausschlag zugunsten des Formaldehyds, indem die Formaldehydkeimlinge unter der Glasglocke eine längere Lebensdauer hatten als die des Kontrollversuchs unter der formaldehydfreien Glasglocke. Es scheint hier der Formaldehydgehalt des Keimbeetes sich nicht der Formaldehydkonzentration der Lauge angepaßt zu haben. Als nämlich *Bokorny* später Gartenkressensamen in einer 0,1proz. Formaldehydlösung keimen ließ¹⁾, starben die Samen alsbald ab. Selbst eine 0,01proz. Lösung von Formaldehyd wirkte noch sehr hemmend auf die Keimung. *V. Arcichovskij*²⁾ prüfte die Einwirkung des Formaldehyds auf die Samen der Erbse, die nur eine beschränkte Zeit dem Formaldehyd ausgesetzt, dann in formaldehydfreies Keimbeet gebracht wurden. Dabei zeigte sich, daß die Giftwirkung mit der Dauer der Einwirkung der Formaldehydlösung ansteigt; lagen die Samen 4 Stunden in einer 0,5proz. Formaldehydlösung, so sank der Prozentsatz der gekeimten Samen von 100 Proz. des Kontrollversuchs auf 24 Proz., lagen sie 8 Stunden in der Lösung, so sank er auf 0 Proz.; für eine 0,25proz. Formaldehydlösung fand *Arcichovskij* nach achtstündiger Einwirkung noch einen Prozentsatz gekeimter Samen von 24 Proz., erst nach 16stündiger Einwirkung einen solchen von 6 Proz.; bei einer 0,125proz. Formaldehydlösung betrug der Prozentsatz der gekeimten Samen nach 16 Stunden noch 20 Proz., erst nach 32 Stunden 0 Proz. Auffallend ist die Beobachtung *Arcichovskijs*, daß die Giftwirkung der Formaldehydlösung auf die Samen ansteigt bis zur Konzentration von 4 Proz., dann wieder mit steigender Konzentration abnimmt. Nach vierstündigem Liegen in einer 1-, 2-, 4- und 8proz. Formaldehydlösung keimten 0 Proz. Samen, in einer 16proz. Lösung 16 Proz. Samen, in einer 32proz. Lösung 84 Proz. Samen. Selbst nach 256stündigem Aufenthalte in 40proz. Formaldehydlösung keimten noch 37,5 Proz. der Samen.

*A. Cséte*³⁾ stellte Untersuchungen an über die Wirkung einer Anzahl gebräuchlicher Samenbeizmittel auf Zuckerrübensamen, darunter auch über die Wirkung einer 0,13proz. Formaldehydlösung. Diese Wirkung soll in einer Erhöhung der Keimungsenergie und der Keimungsfähigkeit bestanden haben.

*W. M. Atwood*⁴⁾ studierte die durch Formaldehyd in geringen Konzentrationen verursachte physiologische Veränderung keimender Weizensamen. Er beobachtete eine Herabsetzung der Atmung, eine Schwächung der enzymatischen Wirkung der Diastase und des Peroxydabbaues durch Katalase selbst durch minimale Formaldehydkonzentration; trotzdem sollen auch hier geringe Formaldehydkonzentrationen auf die Keimung anregend gewirkt haben.

¹⁾ Diese Zeitschr. 50, 94, 1913.

²⁾ Ebenda selbst 50, 233, 1913.

³⁾ Kiserletügyi Közlemenyek 24, 232, 1921; Bied. Zentralbl. f. Agrik.-Chem. 51, 207; Chem. Centralbl. 1922, III, S. 945; Bot. Centralbl. 1, 384, 1922.

⁴⁾ Bot. Gazette 74, 233, 1922; Bot. Centralbl. 2, 332, 1923.

E. Blanck und *F. Giesecke*¹⁾ befaßten sich eingehend mit der Wirkung von Mono- und Dimethylolharnstoff auf die Pflanzenproduktion und ihrem Stickstoffumsatz im Boden. Sie ließen einerseits mit verschiedenen Mengen Formalin versetzten Harn, andererseits die beiden Derivate des Harnstoffs in reiner Form auf keimende Samen einwirken. Obwohl dem Samen somit neben dem Formaldehyd auch Stickstoff zugeführt wurde, trat eine Verzögerung im Keimen dieser Samen gegenüber normalem Samen ein. Diese Verzögerung stieg mit der zugesetzten Formaldehydmenge an, höhere Konzentrationen führten zu starker Schädigung der Samen. Die anfangs durch den Formaldehyd in ihrer Entwicklung gehemmten Keimlinge zeigten aber nachträglich ein stärkeres Wachstum wie die normalen Keimlinge, so daß sie die letzteren in der Entwicklung allmählich wieder einholten. Somit schien die anfängliche Verzögerung durch eine nachträglich eintretende Reizung behoben zu werden; eine Reizwirkung auf die Wurzeln wollten aber *E. Blanck* und *F. Giesecke* nicht annehmen. Die Kondensationsprodukte von Harnstoff und Formaldehyd wirken ebenso ungünstig wie der mit Formaldehyd versetzte Harn, und zwar wirkte der Dimethylolharnstoff ungünstiger als der Monomethylolharnstoff. Ihre Beobachtungen machten *E. Blanck* und *F. Giesecke* an Haferkörnern. Mit diesen hatten schon früher *Windisch*²⁾, *Kinzel*³⁾ und *Kießling*⁴⁾ Versuche angestellt, wobei durch geringe Formaldehydmengen eine Förderung, durch stärkere eine keim-schädigende bis keimtötende Wirkung festgestellt wurde. Nach *A. Volkart*⁵⁾ wirkt Formaldehyd auf Hafer reizend, indem er eine schnellere Keimung der oberirdischen Teile verursacht, wobei allerdings die Wurzeln zurückbleiben. Bei Keimversuchen mit Erbsen fanden *E. Blanck* und *F. Giesecke* für alle von ihnen benutzten, Formaldehyd und seine Kondensationsprodukte mit Harnstoff enthaltenden Lösungen eine Verzögerung oder stärkere Schädigung, je nach der Konzentration, ebenso bei Keimversuchen mit Senf. Daß mit steigender Formalinzugabe auch eine steigende Schädigung der Keimung der Erbsen eintritt, wurde auch von *Windisch*²⁾ festgestellt. Die Keimversuche von *E. Blanck* und *F. Giesecke* mit Rübensamen ergaben ein ähnliches Resultat wie die Versuche mit Haferkörnern. Auch *Schander* und *Fischer*⁶⁾, ferner *Müller* und *Moltz*⁷⁾ stellten bei Rübensamen eine erhebliche Widerstandsfähigkeit gegen geringe Formaldehydkonzentrationen fest. Erstere schließen aus ihren Versuchen, daß Rübensamen bei längerer Behandlung mit Formaldehyd wohl etwas an Keimfähigkeit verlieren, daß sie andererseits aber bei kurzer Behandlungsdauer große Konzentrationen von Formaldehyd vertragen können, letztere beobachteten bei Rübensamen eine wesentliche Wachstumsförderung durch eine 2proz. Formalinlösung. *E. Blanck* und *F. Giesecke* schließen aus ihren Versuchen, daß der Mono-sowohl als auch der Dimethylolharnstoff in allen Fällen keimverzögernd wirken, daß jedoch bei Hafer und Rüben eine Reizwirkung durch die Kondensationsprodukte dergestalt ausgeübt wird, daß nach vorübergehender Schädigung eine schnellere Keimung eintritt. Es ist dabei zu

¹⁾ Zeitschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung, 2. A., 1923, S. 393.

²⁾ Landwirtsch. Versuchsstation 49, 223, 1898; 55, 241, 1901.

³⁾ Ebendasselbst 49, 461, 1898.

⁴⁾ Journ. f. Landwirtsch. 66, 7.

⁵⁾ Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz 1906, S. 36.

⁶⁾ Landwirtsch. Jahrb. 48, 735, 1915.

⁷⁾ Zeitschr. d. Vereins f. deutsche Zuckerindustrie 1914, S. 10.

berücksichtigen, daß diese schnellere Keimung weniger durch den Formaldehyd, sondern eher durch den Stickstoff bedingt ist.

Die Ergebnisse dieser zahlreichen Versuche über die Wirkung des Formaldehyds auf keimende Samen widersprechen sich zwar teilweise. Immerhin zeigen sie klar, daß Samen verschiedener Pflanzenarten auf bestimmte Formaldehydkonzentrationen verschieden reagieren können. Dies war ja wohl schon wegen der Verschiedenheit der Samenschalen nicht anders zu erwarten, auch der innere Chemismus der einzelnen Pflanzenarten kann gegen Formaldehyd sich verschieden verhalten. Selbst bei der gleichen Samenart können aus diesen beiden Gründen Verschiedenheiten auftreten durch verschiedene individuelle Veranlagung. Ferner zeigen die angeführten Versuche, daß auch geringe Formaldehydkonzentrationen bei längerer Einwirkung fast alle Samen in der Keimung mehr oder weniger hemmen, wenn auch diese Hemmung nachträglich bei einigen Samen durch intensiveres Wachstum wieder ausgeglichen wird. Ob letzteres tatsächlich durch eine von dem Formaldehyd ausgeübte Reizwirkung bedingt wird, erscheint immerhin fraglich; die Mitteilungen über eine Reizwirkung des Formaldehyds sind auch nicht gleichmäßig.

Ich führte die Versuche mit den Samen der Erbse, *Pisum sativum*, und einer Baumwolleart, *Gossypium*, aus. Die Erbsen waren ein halbes Jahr alt, die Baumwollsamensamen 1½ Jahre. Die Erbsen wurden in Keimchalen auf mit Filter bedecktem Sande im Dunkeln zum Keimen gebracht, wobei man ihnen einerseits reines Wasser, andererseits eine 0,13proz. Formaldehydlösung zuführte. Ich benutzte somit eine Formaldehydlösung von derselben Konzentration wie *Csete*. Die in reinem Wasser sich befindenden Erbsen keimten zu 100 Proz., die Erbsen in der Formaldehydlösung nur zu 25 Proz.; auch diese 25 Proz. gekeimten Samen entwickelten sich nicht weiter, sondern starben alsbald ab. Die Samen der Baumwolle ließ ich einerseits in reinem Wasser, andererseits in einer 0,13proz. Formaldehydlösung quellen und legte die so behandelten Samen dann in Keimbeete, die wieder teils mit reinem Wasser, teils mit derselben Formaldehydlösung getränkt waren. Die Dauer des Quellens betrug 3 Stunden. Das Ergebnis der Versuche zeigt die Tabelle.

Quellung	Keimbeet	Keimung
1. Formaldehydlösung	Wasser	Normal oder beschleunigt
2. Formaldehydlösung	Formaldehydlösung	Völlig oder fast völlig unterbunden
3. Wasser	Formaldehydlösung	Teilweise unterbunden Wachstum stark verzögert
4. Wasser	Wasser	Normal

Es hat sich so zwar die Beobachtung früherer Untersuchungen bestätigt, daß Formaldehydlösung bei kurzer Einwirkungsdauer das Keimen von Samen beschleunigen kann. Blieben aber die Samen längere Zeit in der Formaldehydlösung, so war die Keimung mehr oder weniger stark unterbunden. Keimten die Samen, so war das Wachstum verzögert. Ich führte die Versuche mit diesen Samen wiederholt aus und konnte dabei mitunter beobachten, daß die in Formaldehydlösung angequollenen Samen die höchste Keimfähigkeit besaßen, d. h. nach mehreren Tagen hier die meisten Samen gekeimt waren. So verhielt sich am fünften Tage nach dem Einlegen der Samen in die Keimbeete der Prozentsatz der gekeimten Samen für 1 : 2 : 3 : 4 wie 100 : 0 : 30 : 70 Proz. Das ist wohl dadurch zu erklären, daß beim Behandeln mit Formaldehyd Schädlinge, welche den Samen ansaßen, abgetötet wurden und somit die Samen vor einer Zerstörung durch diese Schädlinge bewahrt blieben. Das ist ja auch der Zweck des Beizens der Samen unserer Nahrungspflanzen mit Formaldehyd und anderen Beizmitteln; darauf ist wohl vor allem die Erhöhung des Ertrages, welchen das Saatgut liefert, zurückzuführen. Eine solche Erhöhung der Keimfähigkeit wird man besonders bei stark von Schädlingen befallenen Samen beobachten können. So stellte *A. Froberg*¹⁾ bei verschimmelten Lupinenkörnern eine Erhöhung der Keimfähigkeit von 27 Proz. auf 82 Proz. fest, wenn er die Lupinenkörner vor der Aussaat mit Uspulunlösung beizte (Uspulun enthält als wirksamen Bestandteil Chlorphenolquecksilber). Kommt auf diese Weise eine Erhöhung der Keimfähigkeit durch Formaldehyd zustande, so wäre deswegen der Formaldehyd noch kein Reizmittel, sondern ein Desinfektionsmittel, das kleinere Organismen rascher und in geringerer Konzentration vergiftet als größere. Und ist durch Formaldehyd außer der Keimfähigkeit auch die Keimungsenergie erhöht, wie dies nicht nur von mir, sondern auch schon von anderen beobachtet wurde, so beweist auch diese Tatsache noch nicht, daß dem Formaldehyd wirklich die Rolle eines wahren Reizstoffes bei den Umsetzungen des Lebens zukommt. Man kann das beschleunigte Keimen der mit Formaldehyd behandelten Samen auch durch Veränderungen der Samenschale erklären, die durch diese Veränderungen z. B. leichter durchlässig für Wasser wird, was eine Beschleunigung des Keimens und des Wachsens der Keimlinge verursacht. Der Formaldehyd könnte auch die Bildung eigentlicher Reizstoffe oder Hormone erst bewirken, ebenso wie z. B. Verletzungen die Entstehung von Wundhormonen auslösen. Eine derartige Erklärung möchte ich für die erhebliche

¹⁾ Hannoversche land- und forstwirtschaftliche Zeitung 75, 415, 1922; Zeitschr. f. Pflanzenernährung und Düngung, 2. B., 1923, S. 114.

Beschleunigung des Keimens von Samen geben, welche ich gemeinsam mit *M. W. Zaher*¹⁾ bei der Einwirkung von Brom auf Samen beobachtete. Legt man Erbsen kurze Zeit in Bromwasser, wie das häufig bei Keimungsversuchen zur Vernichtung von anhaftenden Schädlingen geschieht, und bringt sie hierauf nach vollkommener Entfernung des Bromwassers in ein Keimbeet, so keimen sie wesentlich schneller als Samen, die nicht mit Bromwasser behandelt waren. Ohne die vorher erwähnten Versuche *C. Neubergs* bestände kaum eine Berechtigung, den Formaldehyd als ein echtes Reizmittel für Enzymreaktionen anzusehen. Ob aber die erhöhte Keimfähigkeit und die erhöhte Keimungsenergie tatsächlich auf eine Reizwirkung durch den Formaldehyd zurückzuführen sind, darüber läßt sich bis jetzt nicht entscheiden; ich möchte es vorläufig bezweifeln.

Es treten diese fördernden Wirkungen des Formaldehyds auf Samen aber nur ein, wenn die Samen nur kurze Zeit dem Formaldehyd ausgesetzt sind, d. h. wenn sie in der Formaldehydlösung nur quellen und dann aus ihr entfernt werden. Bleiben die Samen dauernd der 0,13proz. Formaldehydlösung ausgesetzt, so leidet ihre Entwicklung dadurch erheblich. Eine 0,13proz. Formaldehydlösung hemmt oder unterbindet die Entwicklung der keimenden Samen.

II.

Möglichst gleiche Zweige von Flieder, *Syringa vulgaris* L., wurden im Dezember, nachdem sie bereits unter der Einwirkung des Frostes gestanden hatten, von dem Strauch entnommen, in das warme Zimmer gebracht und dort in reines Wasser, *Sachssche* Nährsalzlösung, 2proz. und 4proz. Formaldehydlösung und 2proz. Traubenzuckerlösung gestellt. Ich benutzte deshalb eine so starke Konzentration der Formaldehydlösung, da durch Vorversuche bereits festgestellt war, daß durch Formaldehydlösungen solcher Konzentration das Treiben nicht, wie man zu erwarten geneigt sein konnte, vollkommen unterbunden wird. Die von den Formaldehydlösungen gespeisten Zweige trieben, wenn auch nicht so kräftig wie die Zweige in den anderen Lösungen. Die Energie des Treibens stieg an in der Reihenfolge: 4proz. Formaldehydlösung < 2proz. Formaldehydlösung < Wasser < Nährsalzlösung < Traubenzuckerlösung.

Daß Traubenzucker das Treiben beschleunigte, steht im Einklang mit den Beobachtungen von *F. V. Coville*²⁾ über den Einfluß der Kälte auf

¹⁾ *M. W. Zaher*, Dissertation, Berlin 1924.

²⁾ *Journ. of Agricultural Research* 20, 151, 1920; *Ann. Rep. Smithsonian Inst.* 1919, S. 281; *Bot. Centralbl.* 2, 456; vgl. auch *W. Engeln*, *Kosmos* 19, 319, 1922.

das Treiben. *Coville* ist der Ansicht, daß wohl der Frost den die Stärke abbauenden Fermenten den Zutritt zur Stärke ermöglicht, so daß nur in Zweigen, die bereits der Einwirkung des Frostes ausgesetzt waren, die Stärke zu Zucker umgewandelt und dadurch das Treiben verursacht wird. Der bei der Umwandlung entstehende Zucker dient den Zellen nicht nur als Nahrung, sondern auch zur Erhöhung des osmotischen Druckes, der dann erst das Austreiben und Wachstum der Pflanzen veranlaßt.

Der Formaldehyd konnte zwar die Glucose beim Treiben der Zweige nicht ersetzen. Immerhin ist es auffallend, daß Formaldehydlösungen von dieser Konzentration das Treiben nicht gänzlich unterbinden. Die treibenden Zweige waren gegen den Formaldehyd erheblich widerstandsfähiger als die keimenden Samen. Vielleicht erfährt der Formaldehyd in den Zweigen irgend eine Umwandlung, so daß er die Entwicklung der Knospen nur mehr wenig stören kann.

Ich habe zu meinen Versuchen treibende Zweige deshalb verwendet, da man gerade bei ihnen in der Praxis Reizmittel, wie heißes Wasser, Äther, konzentrierte Schwefelsäure und dergleichen benutzt, um das Treiben zu beschleunigen.

III.

Nach *C. Neuberg*¹⁾ wird die Gärung durch Hefesaft vollkommen unterbunden, wenn das Gärungsgemisch in 13 ccm 1 ccm m Formaldehydlösung, also in 100 ccm 0,23 g Formaldehyd enthält, dagegen beschleunigt, wenn das Gärungsgemisch in 13 ccm 1 ccm m/10, m/100 oder m/1000 Formaldehydlösung, also in 100 ccm 0,023 g, 0,0023 g oder 0,00023 g Formaldehyd enthält. Bei unseren früheren Versuchen²⁾ fanden wir in dem Zellsaft der Pflanzen, welchen Formaldehyd in der Atmosphäre zugeführt wurde, weniger als 0,055 Proz. Formaldehyd. Die Formaldehydkonzentration des Zellsaftes stand somit der von *C. Neuberg* als die Hefesaftgärung fördernd erkannten Konzentration weit näher als der nach *C. Neuberg* die Gärung unterbindenden Konzentration, und man könnte daher geneigt sein, auch bei unseren früheren Formaldehydernährungsversuchen eine derartige Reizwirkung anzunehmen. Daß diese Annahme nicht zu Recht besteht, wird anschließend gezeigt.

Zu den Versuchen benutzte ich Konzentrationen des Formaldehyds zwischen 0,005 bis 0,4 Proz. Je 5 ccm 10proz. Glucoselösung wurden mit 5 ccm destilliertem Wasser, das verschiedene Mengen Paraform enthielt, gemischt; das Gemisch rieb man mit 0,5 g obergäriger Hefe an, die Anreibung brachte man sofort in *Einhornsche* Röhrchen

¹⁾ Diese Zeitschr. 88, 145, 1918; 101, 239, 1920.

²⁾ Ebendasselbst 145, 375, 1924.

und überließ sie bei 21° im Thermostaten der Gärung. Die Kohlensäureentwicklung betrug in Kubikzentimetern:

	Nach	60'	90'	120'		Nach	75'	105'	135'	165'	195'
Bei 0,0 Proz. CH ₂ O	1	2,8	6		Bei 0,0 Proz. CH ₂ O	2,3	5,2	6	6	6	
" 0,005 " CH ₂ O	1	2,7	6		" 0,025 " CH ₂ O	1	2,3	5	6	6	
" 0,01 " CH ₂ O	0,6	2,2	4,6		" 0,05 " CH ₂ O	0,3	0,9	3	4,1	6	

	Nach	30'	75'	105'	135'	165'		Nach	150'	330'	1 Tag
Bei 0,0 Proz. CH ₂ O	0,2	2	3,8	5,8	6		Bei 0,0 Proz. CH ₂ O	6	6	6	
" 0,03 " CH ₂ O	0,2	1	2,1	4,2	6		" 0,05 " CH ₂ O	2	6	6	
" 0,04 " CH ₂ O	0,1	0,6	1,4	3	5		" 0,1 " CH ₂ O	0,4	2,3	6	

	Nach	135'	240'		Nach	105'	300'	1 Tag	2 Tagen
Bei 0,0 Proz. CH ₂ O	4	6		Bei 0,0 Proz. CH ₂ O	5	6	6	6	
" 0,1 " CH ₂ O	0,2	0,8		" 0,2 " CH ₂ O	0,05	0,1	5	6	
" 0,2 " CH ₂ O	0,0	0,0		" 0,3 " CH ₂ O	0,0	0,0	0,1	0,2	

	Nach	105'	240'
Bei 0,0 Proz. CH ₂ O . .	5	6	
" 0,3 " CH ₂ O . .	0,05	0,05	
" 0,4 " CH ₂ O . .	0,0	0,0	

Da das Meßröhrchen für die Kohlensäure nur 6 ccm faßte, entsprach die Entwicklung von 6 ccm Kohlensäure der noch meßbaren Höchstmenge, nicht der tatsächlich entwickelten Kohlensäure. Die in den Tabellen angegebenen Kubikzentimeter Kohlensäure sind nicht direkt proportional der Geschwindigkeit der Gärung, da ja das die Kohlensäure entwickelnde Gärungsgemisch durch die entwickelte Kohlensäure aus dem Meßröhrchen verdrängt wird und die Kohlensäuremenge um so langsamer zunimmt, je weniger Gärungsgemisch noch unter der Kohlensäureschicht sich befindet. Trotzdem war es möglich, mit Hilfe der *Einhorn*schen Röhrchen die Wirkung der jeweiligen Paraformkonzentration auf die Hefe so weit zu ermitteln, als es für den Zweck dieser Untersuchungen notwendig war.

Eine Konzentration von 0,05 Proz. Paraform verzögert zwar den Beginn der Gärung etwas, unterbindet die Gärung aber keineswegs.ogar bei einer Konzentration von 0,2 Proz. fand noch eine Gärung statt. Erst die Konzentrationen von 0,3 und 0,4 Proz. unterbanden die Gärung mehr oder weniger vollkommen. Eine geringe Verzögerung der Gärung war noch bis zur Konzentration von 0,01 Proz. zu beobachten. Ist es gestattet, von der Einwirkung des Formaldehyds auf

die Gärung durch Hefe Rückschlüsse zu ziehen auf die Einwirkung des Formaldehyds auf die im Pflanzenkörper den Abbau des Zuckers und der Stärke bewirkenden Fermente, so wird man auch für diese nicht eine Unterbindung ihrer Funktion durch eine Konzentration von weniger als 0,055 Proz. Formaldehyd annehmen können, höchstens eine geringe Verzögerung. Umgekehrt kann man auch nicht auf eine Reizwirkung des zugesetzten Formaldehyds auf die Tätigkeit der den Aufbau von Zucker und Stärke bewirkenden Fermente schließen.

Die Beobachtung der vollkommenen Hemmung der Gärung durch eine Konzentration von 0,3 bis 0,4 Proz. steht in Übereinstimmung mit der Mitteilung von *C. Neuberg*¹⁾, daß eine Formaldehydkonzentration von 0,23 Proz. bereits die Gärung durch Hefesaft unterbindet. Die hier weiter beobachtete Verzögerung der Gärung auch durch wesentlich geringere Formaldehydmengen steht keineswegs im Widerspruch mit der von *C. Neuberg*²⁾ festgestellten stimulierenden Wirkung solch kleiner Formaldehydmengen auf die Gärung durch Hefesaft. Gerade aus *C. Neubergs* Überlegungen und experimentellen Feststellungen ergibt sich eine Erklärung des scheinbaren Widerspruchs. Einerseits weist *C. Neuberg*³⁾ darauf hin, daß die bei Hefesaft von ihm beobachtete stimulierende Wirkung der Aldehyde bei der Verwendung lebender Objekte unterbleiben kann, da diese schon von Natur aus mit aldehydischen Aktivatoren weitgehend versehen sind; andererseits beobachtete *C. Neuberg* beim Zimtaldehyd, daß dieser die zellfreie Gärung durch den Hefesaft katalysiert⁴⁾, während er die Gärung durch lebende Hefe verzögert⁵⁾.

Die Annahme *C. Neubergs*, daß lebende Objekte durch künstlichen Zusatz von Aldehyden keine Reizung ihrer Lebensfunktionen mehr erfahren können, dürfte nach meinen Versuchen mindestens für die von mir benutzte Hefe und Formaldehyd zutreffen. Überträgt man diese Annahme *C. Neubergs* auf die höheren Pflanzen, so ergibt sich aus ihr die notwendige und für unsere früheren Versuchsergebnisse sehr wichtige Konsequenz, daß der künstlich den Pflanzen beigebrachte Formaldehyd dort keine Reizwirkung auf die den Aufbau der höheren Kohlehydrate durchführenden Fermente ausüben konnte. Noch ein anderer Umstand spricht gegen den Einwand, daß der von uns früher gefundene größere Zucker- und Stärkegehalt der mit Formaldehyd behandelten Pflanzen nur durch eine Reizung der den Zucker- und Stärkeaufbau bewirkenden Enzyme bedingt sei, nämlich das Fehlen

¹⁾ Diese Zeitschr. 88, 178, 1918.

²⁾ Ebendasselbst 88, 145, 1918; 101, 239, 1920.

³⁾ Ebendasselbst 101, 241, 1920.

⁴⁾ Ebendasselbst 88, 158, 1918.

⁵⁾ Ebendasselbst 101, 268, 1920.

der für die normale pflanzliche Kohlenstoffassimilation notwendigen Faktoren Kohlensäure und Licht, von denen beide, oder doch wenigstens einer ausgeschaltet waren. *Th. Bokorny*¹⁾ hat deshalb gerade diese Methode zum Beweise benutzt, daß Formaldehyd nicht als Reizmittel auf die Produktion höherer Kohlehydrate im Pflanzenkörper wirkt, sondern als direktes Baumaterial für die höheren Kohlehydrate.

Die geringe Verzögerung, welche die Konzentrationen von weniger als 0,05 Proz. bei der Hefegärung bewirkt hatten, läßt schließen, daß auch der Abbau des Zuckers und der Stärke in der mit Formaldehyd in der Atmosphäre ernährten Pflanze, bei der wir im Zellsaft einen Formaldehydgehalt von weniger als 0,055 Proz. fanden, höchstens unerheblich verzögert wird; der bedeutend höhere Gehalt des Zuckers und der Stärke bei den mit Formaldehyd behandelten Pflanzen ist nicht durch eine so geringe Verzögerung des Abbaues zu erklären. Bei den Versuchen mit der Wasserpest wurde dieser Paraform in 0,001proz. Lösung geboten, so daß hier auch eine geringe Verzögerung der Enzymreaktionen ausgeschlossen war.

Ergebnis.

Auf keimende Samen wirkte eine 0,13proz. Formaldehydlösung hemmend oder die Keimung überhaupt verhindernd, treibende Zweige wurden selbst durch eine 4proz. Formaldehydlösung nicht am Treiben verhindert, sondern nur etwas verzögert, die Vergärung von Glucose durch *lebende* Hefe wurde durch Formaldehyd in einer Konzentration von 0,3 Proz. unterbunden, durch Konzentrationen zwischen 0,3 und 0,005 Proz. nur verzögert, und zwar mit sinkender Konzentration immer weniger.

Daß keimende Samen gegenüber Formaldehyd am meisten empfindlich sind, ist bei der geringen Widerstandsfähigkeit des werdenden Pflänzchens verständlich. Daß Zweige selbst in einer 4proz. Formaldehydlösung zum Treiben kamen, daß die Hefegärung selbst durch eine 0,2proz. Formaldehydlösung nicht unterbunden wird, spricht gegen eine erhebliche Hemmung der den Abbau des Zuckers und der Stärke durchführenden Enzyme durch den Formaldehyd bei unseren früheren Formaldehydernährungsversuchen; fanden wir doch im Zellsaft der mit gasförmigem Formaldehyd behandelten Pflanzen weniger als 0,055 Proz. Formaldehyd, und boten wir doch den Wasserpflanzen Formaldehyd nur in 0,001proz. Lösung. Auch eine Reizwirkung durch diese Konzentrationen auf die enzymatischen Umsetzungen im Pflanzenkörper, also auch auf die den Aufbau von Zucker und Stärke bewirkenden Enzyme ist unwahrscheinlich. Würde tat-

¹⁾ Diese Zeitschr. 86, 87, 1911.

sächlich eine solche Reizwirkung dieser Formaldehydkonzentrationen auf die normale Kohlenstoffassimilation bestehen, so könnte sie hier nicht zur Geltung kommen, da ja die zur normalen Assimilation notwendigen Faktoren Licht und Kohlensäure ausgeschaltet waren.

Nach diesen Versuchen dürfte dem Formaldehyd nicht so allgemein die Rolle eines Reizmittels auf pflanzliche Lebensvorgänge zukommen, wie z. B. dem Schwefelkohlenstoff; für letzteren stellte *C. Oldenbusch*¹⁾ fest, daß er die Keimung der Weizenkörner fördert und die weitere Entwicklung der Weizenkeimlinge, das Wachstum der Pflanzen von *Vicia faba* L., der Saubohnen, die Entfaltung der Knospen treibender Weidenzweige und das Wachstum und die Sporenbildung niederer Pilze.

¹⁾ Bull. Torrey Bot. Club 49, 375, 1922; Bot. Centralbl. 3. 74, 1923.

Die Konzentration des Silberions in Lösungen von kolloiden und komplexen Silberpräparaten mit besonderer Berücksichtigung ihrer medizinischen Anwendung.

Von
H. Schlee.

(Mitteilung aus dem Pharmazeutischen Institut und Laboratorium für angewandte Chemie der Universität München.)

(Eingegangen am 2. April 1924.)

Mit 10 Abbildungen im Text.

Für die wissenschaftliche Erforschung der Giftwirkung der Silberpräparate war, wie für die der chemischen Präparate überhaupt, die Anwendung der physikalisch-chemischen Lehren von weittragender Bedeutung. Durch die Untersuchungen von *B. Krönig* und *Th. Paul*¹⁾, *Scheurlen* und *Spiro*²⁾, *Madsen* und *Nyman*³⁾, *K. Ikeda*⁴⁾, *H. Chick*⁵⁾, u. a. wurden insbesondere die Beziehungen zwischen der Desinfektionswirkung und der Konzentration chemischer Stoffe eingehend studiert und dabei festgestellt, daß die Giftwirkung der Lösungen vieler Metallsalze in erster Linie von deren elektrolytischem Dissoziationsgrad oder, mit anderen Worten, von der Konzentration des Metallions in der Lösung abhängt. Da demnach die Ionen von wesentlichem Einfluß auf die Wirkung dieser Desinfektionsmittel sind, hat die Bestimmung der Konzentration der Metallionen sowohl in rein wässriger Lösung als auch bei Gegenwart von Körperflüssigkeiten, wie Blut, Serum, Harn usw., große Bedeutung.

Für diese Bestimmungen eignen sich von den in der Chemotherapie verwendeten Metallverbindungen am besten die Silberpräparate, weil das Silber z. B. im Gegensatz zum ein- und zweiwertigen Quecksilber, dessen Verbindungen therapeutisch nicht minder wichtig sind, nur

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. **21**, 425, 1896; Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten **25**, 65, 1897; Zentralbl. f. Bakteriologie **29**, 1004, 1901; diese Zeitschr. **29**, 217, 1910.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. **44**, 81, 1897.

³⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **57**, 388, 1907.

⁴⁾ Ebenda **25**, 95, 1897.

⁵⁾ Journ. of Hygiene **8**, 92, 1908.

einwertig auftritt und die Silberionen auf elektrometrischem Wege verhältnismäßig leicht bestimmt werden können.

Untersuchungen in dieser Richtung wurden bereits von *Th. Paul*¹⁾ an einer Anzahl medizinischer Silberpräparate ausgeführt. Die dabei erzielten Ergebnisse zeigten, daß die Bestimmung der Konzentration des Silberions mit Hilfe der elektrochemischen Methode auch in Flüssigkeiten von so komplizierter Zusammensetzung möglich ist, wie sie die wässerigen Lösungen der meisten Silberpräparate und ihre Gemische mit Körperflüssigkeiten darstellen. Inzwischen hat die Anwendung der kolloiden und komplexen Silberpräparate eine weitere Steigerung erfahren und ist durch Herstellung neuer Präparate ständig gefördert worden. Über ihre Wirkungsweise im lebenden Körper hat man aber bislang noch keine genügende Klarheit erhalten können. Es erschien deshalb von besonderem Interesse, zu versuchen, ob durch Messen der Konzentration des Silberions in den beim Einspritzen von Lösungen der Silberpräparate in den lebenden Organismus entstehenden Gemischen ein Einblick in die Wirkungsweise des Silbers gewonnen werden kann.

Zu diesem Zwecke wurde zunächst die anzuwendende Methode durch Bestimmen der Konzentration des Silberions in Silberlösungen mit bekanntem Ionengehalt auf ihre Genauigkeit und auf ihre Brauchbarkeit für die beabsichtigten Versuche geprüft. Sodann wurde mit ihrer Hilfe eine Anzahl neuerer Silberpräparate auf ihr Verhalten in wässriger Lösung und in deren Gemischen mit Blut und Serum untersucht und die Konzentration des Silberions im lebenden Blute nach dem Einspritzen von Silberpräparaten in die Blutbahn bestimmt.

I. Elektrometrische Bestimmung des Silberions.

1. Versuchsanordnung.

Zur Bestimmung der Konzentration des Silberions in den verschiedenen Lösungen wurde mittels der Kompensationsmethode nach *Poggendorf-Du Bois-Reymond* die elektromotorische Kraft einer galvanischen Konzentrationskette gemessen, die aus einer in die Versuchslösung tauchenden Silberelektrode und einer Kalomel-Normalelektrode²⁾ bestand. Das Potential der Kalomel-Normalelektrode bleibt bei den Messungen konstant. Infolgedessen genügt für die Bestimmung der Silberion-Konzentration die Kenntnis der Größe der an der Berührungsstelle der Silberelektrode mit der silberhaltigen Lösung auftretenden elektromotorischen Kraft. Die Berechnung erfolgt nach der *Nernstschen* Formel:

$$E = \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \ln \frac{C}{c}.$$

¹⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. 18, 521, 1912.

²⁾ Über die Bereitung der Kalomel-Normalelektrode vgl. *Ostwald-Luthers* Hand- u. Hilfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen. Herausgegeben von *R. Luther* und *K. Drucker*. Leipzig. W. Engelmann, 3. Aufl., 1910, S. 441.

In dieser Formel bedeutet: R = Gaskonstante, T = absolute Temperatur, n = die Wertigkeit des Ions, F = die Valenzladung (96540 Coulomb für 1 g-Äquivalent), C = eine von der Natur des betreffenden Metalls, in diesen Versuchen also des Silbers, abhängige, mit der Temperatur veränderliche Konstante, c = die Konzentration des Ions in der Lösung.

Neuere Anschauungen¹⁾ über den Zustand der Stoffe in Lösungen, nach denen die starken Elektrolyte schon bei Verdünnungen von 0,1 Mol in 1 Liter in wässriger Lösung praktisch vollständig dissoziiert sind, und zwischen den Ionen elektrische Kräfte wirken, schränken zwar den Gebrauch dieser Formel dahin ein, daß sie nur mit Benutzung eines weiteren Faktors – des von *N. Bjerrum* vorgeschlagenen Aktivitätsfaktors f_a – gültig ist. Einige Forscher, wie *A. A. Noyes* und *G. N. Lewis*²⁾ haben diese Anschauungen in ihren Arbeiten schon verwertet. Indes scheinen in diesen Ansichten noch Lücken vorhanden zu sein und manche Punkte der Aufklärung zu bedürfen. Zudem sind die aufgefundenen Abweichungen immerhin so gering, daß bei genügend verdünnten Lösungen die Unterschiede der Forderungen der älteren und neueren Anschauungen innerhalb mäßiger Grenzen bleiben oder praktisch zusammenfallen. Aus diesen Erwägungen wurde bei der vorliegenden Arbeit von der praktischen Anwendung der neuesten Theorien noch abgesehen, zumal da hierbei fast durchwegs nur stark verdünnte Lösungen untersucht wurden.

Für die Temperatur von $+18^\circ$, bei der alle Messungen vorgenommen wurden, nimmt die *Nernstsche* Gleichung die Form an:

$$E = 0,05771 \log \frac{C}{c} \text{ Volt}^3),$$

worin die Zahl 0,05771 zugleich den Faktor enthält, der den Übergang vom natürlichen zum *Briggschen* Logarithmensystem bewirkt. Zur Berechnung der Konzentration des Metallions c muß man die beim Eintauchen der Silberelektrode in eine Silberlösung von bekanntem Gehalt an Silberion auftretende Potentialdifferenz kennen. Nach *G. N. Lewis*⁴⁾ hat die Kette

Ag – 1 n.-Ag' – Kalomel-Normalelektrode

bei 25° eine elektromotorische Kraft von $+0,515$ Volt, die unter Berücksichtigung des angegebenen Temperaturfaktors bei 18° $+0,516$ Volt beträgt. Aus den Messungen von *F. J. Brislee*⁵⁾ erhält man für diese Kette eine elektromotorische Kraft von $+0,513$ bzw. $+0,514$ Volt, wenn man für ihre Berechnung das Potential einer 0,01- bzw. 0,1 normalen Silbernitratlösung gegen die 0,1-Normal-Kalomelelektrode benutzt. Den nachfolgenden Berechnungen der Konzentration des Silberions ist der Wert $+0,514$ Volt

¹⁾ *N. Bjerrum*, Zeitschr. f. Elektrochem. 17, 392, 1911; *L. Ebert*, Forschungen über Anomalien starker Elektrolyte, Jahrbuch der Radioaktivität und Elektronik 18, 151, 1921.

²⁾ *L. Ebert*, a. a. O., S. 176.

³⁾ Wegen des numerischen Wertes vgl. Mitteilung der Maßeinheitenkommission, den numerischen Wert der Gaskonstante betreffend, Zeitschr. f. Elektrochem. 12, 1, 1906.

⁴⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 55, 473, 1906.

⁵⁾ *R. Abegg*, *Fr. Auerbach*, *R. Luther*, Messungen elektromotorischer Kräfte galvanischer Ketten mit wässrigen Elektrolyten. Abhandlungen der deutsch. Bunsen-Gesellsch. 5, 125, 1911.

für obige Kette zugrunde gelegt. Erhält man z. B. beim Messen einer Silberlösung von unbekanntem Gehalt in der Kette $\text{Ag} - x \text{ n.} - \text{Ag}' - \text{Kalomel-Normalelektrode}$ eine elektromotorische Kraft von ε Volt, dann ist das Potential der Kette

$$\text{Ag} - x \text{ n.} - \text{Ag}' - 1 \text{ n.} - \text{Ag}' - \text{Ag}; \quad E = \varepsilon - 0,514 \text{ Volt.} \quad (1)$$

Da für gleichionige Elektrolyte die *Nernstsche* Formel zu

$$E = 0,05771 \log \frac{c_2}{c_1}$$

wird, wobei c_2 und c_1 die Ionenkonzentration der beiden Lösungen angeben. so ist das Potential dieser Kette andererseits

$$E = 0,05771 \log \frac{x}{1}. \quad (2)$$

Durch Kombination der Gleichungen (1) und (2) erhält man

$$\varepsilon - 0,514 = 0,05771 \log x \text{ und}$$

$$\log x = \frac{\varepsilon - 0,514}{0,05771}.$$

Je nachdem in der Kette die Silberelektrode positiver oder negativer Pol ist, wird das Vorzeichen von ε auch positiv oder negativ. Findet man z. B. $\varepsilon = + 0,514$ Volt, so ergibt sich aus obiger Gleichung $x = 1$ (g-Ion in 1 Liter). Für $\varepsilon = 0$ ist $x = 1,2 \cdot 10^{-9}$ und für $\varepsilon = - 0,1$ ist $x = 2,3 \cdot 10^{-11}$ mg-Ion in 1 Liter. Demnach hat die Silberelektrode nur bei ganz außerordentlich kleinen Konzentrationen des Silberions negative Ladung.

Diese Berechnung gibt jedoch nur dann richtige Werte, wenn bei der Berührung der Versuchslösung mit der Flüssigkeit der Normalelektrode keine beachtenswerten Potentialdifferenzen auftreten. Für die Berechnung derselben müßte man sowohl die Konzentration als auch die Wanderungsgeschwindigkeit sämtlicher vorhandener Ionenarten kennen¹⁾. Da dies bei den hier untersuchten Lösungen nicht der Fall ist, so wurden zur Vermeidung des Diffusionspotentials²⁾ bei jeder Untersuchung zwischen die Silberlösung und die Normalelektrode zwei oder drei verschiedene Zwischenflüssigkeiten nebeneinander eingeschaltet. Als solche wurden 2 n.- oder $\frac{1}{2}$ n.-Kaliumnitratlösung und, wenn sich hierbei größere Unterschiede in den gemessenen Potentialen ergaben, gleichzeitig nach dem Vorgange *N. Bjerrums*³⁾ gesättigte und halbgesättigte Kaliumchloridlösung benutzt und die Differenz der so erhaltenen Potentiale dem mit gesättigter Kaliumchloridlösung zugezählt. Diese Zwischenflüssigkeiten waren durch Heber miteinander und mit einer mit Kalomel gesättigten 1 n.-Kaliumchloridlösung verbunden, in die dann die Normalelektrode eintauchte. Da beim Wechseln der Konzentration der Zwischenflüssigkeiten keine nennenswerten oder gleichgerichteten Unterschiede der elektromotorischen Kraft auftreten, so sind die etwa noch vorhandenen Flüssigkeitspotentiale jedenfalls so gering, daß die nach den oben angeführten Korrekturen erhaltenen Werte den wahren Werten sehr nahe liegen.

¹⁾ *M. Blanck*, Wiedem. Annalen 40, 511, 1890.

²⁾ *L. Michaelis*, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 5, I. Teil, S. 505.

³⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 53, 428, 1905; Zeitschr. f. Elektrochem. 17, 392, 1911.

Da die zu untersuchenden Lösungen oft nur sehr geringe Mengen Silber enthielten und als Lösungsmittel neben reinem Wasser auch natriumchlorid- und eiweißhaltige Flüssigkeiten zur Anwendung kamen, erscheint es angebracht, die zu den vorliegenden Versuchen benutzte, in Abb. 1 gezeichnete Apparatur im folgenden eingehender zu beschreiben.

Die beiden Pole eines Akkumulators sind durch dicke Kupferkabel mit den beiden Enden *a* und *b* einer 1 m langen Meßbrücke verbunden, deren Meßdraht nach der Methode von *Strouhal* und *Barus* kalibriert war¹⁾. Von *a* zweigt ein Nebenstromkreis zum Umschalter *U* ab. Ist dessen Kontakthebel nach rechts gestellt, so durchfließt dieser Strom das Westonelement *W* und Stromwender *C*, hierauf das Elektrometer *K* sowie den Schlüssel *S* und vereinigt sich durch den Gleitkontakt *G* wieder mit dem

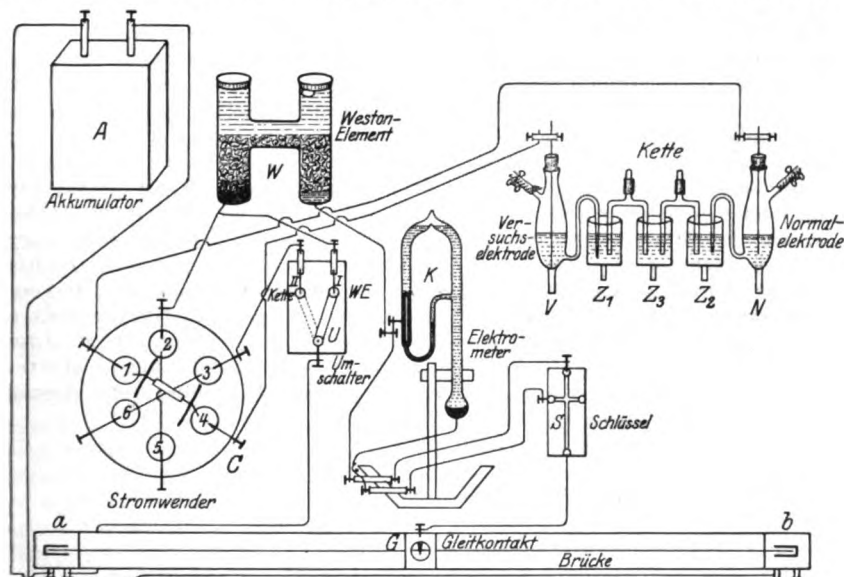


Abb. 1. Anordnung der Apparatur zur Bestimmung der Konzentration des Silberions.

nur den Meßdraht durchfließenden Hauptstrom. Im Nebenstromkreis ist dann nur die elektromotorische Kraft des Westonelements wirksam. Wird der Umschalter *U* nach links gestellt, so ist in den Nebenstromkreis auch noch die Konzentrationskette eingeschaltet. Diese besteht aus zwei Halbelementen²⁾, von denen das eine — *N* — die Kalomel-Normalelektrode darstellt, und das andere — *V* — die silberhaltige Versuchsflüssigkeit enthält, in welche die Silberelektrode eintaucht. Die verwendeten Silberelektroden bestanden aus etwa 20 cm langen und 1 mm starken Drähten chemisch reinen Silbers, die zu zwei Drittel ihrer Länge in dünne Glasröhren eingekittet und durch die Bohrung eines Gummistopfens in das Elektrodengefäß geführt wurden. Das aus dem Glasrohr herausragende Ende war mit

¹⁾ Ostwald-Luthers Hand- und Hilfsbuch, S. 408; Wiedem. Ann. 10 286, 1880.

²⁾ Ostwalds-Luthers Hand- und Hilfsbuch, S. 435.

Schmirgelpapier gut gereinigt und nach der Vorschrift von *H. M. Goodwin*¹⁾ in einer Kalium-Silbercyanidlösung unter Anwendung eines Stromes von etwa 12 Milliampère galvanisch versilbert. Durch das seitlich angeschmolzene, gebogene Kapillarrohr des Elektrodengefäßes stand die Versuchslösung mit der in einem kleinen, becherglasförmigen Gefäß Z_1 befindlichen Zwischenflüssigkeit in Verbindung und ebenso die Flüssigkeit der Normalelektrode mit der mit Kalomel gesättigten 1 n.-Kaliumchloridlösung, die in ein gleiches Gefäß Z_2 gefüllt war. Nötigenfalls wurde noch eine dritte Zwischenflüssigkeit — gesättigte und halbgesättigte Kaliumchloridlösung — in einem gleichen Gefäß Z_3 zwischen Z_1 und Z_2 eingeschaltet.

An diese Apparate ist der Stromwender C so angeschlossen, daß beim Verbinden seiner Quecksilbernäpfe 1 und 4 mit 2 und 3 der Strom des Nebenkreises die Potentiale des Westonelementes und der Kette mit sich führt, beim Verbinden mit 5 und 6 dagegen die Differenz aus diesen Größen in ihm wirksam ist. Durch Verschieben des Gleitkontaktes G längs des Meßdrahtes der Brücke kann man die Größe der zwischen a und G bestehenden Potentialdifferenz so regeln, daß sie gleich den im Nebenstromkreis fließenden Kräften ist, das Kapillarelektrometer also keinen Ausschlag gibt. Auf diese Weise läßt sich kurz hintereinander je nach der Stellung des Umschalters und des Stromwenders die elektromotorische Kraft des Westonelementes allein, sowie die Summe und die Differenz der elektromotorischen Kräfte des Westonelementes und der Kette messen. Da für diese kurze Zeit die elektromotorische Kraft des Akkumulators als konstant betrachtet werden kann, so verhalten sich die gemessenen Potentiale wie die entsprechenden Längen des Meßdrahtes zwischen a und dem Gleitkontakt G . Die elektromotorische Kraft des Westonelementes beträgt nach *W. Jäger* und *St. Lindeck*²⁾ bei 18° 1,0187 Volt. Demnach ergibt sich für die elektromotorische Kraft der Konzentrationskette, wenn die beobachteten Drahtlängen mit l_1 , l_2 und l_3 bezeichnet werden,

$$1,0187 : 1,0187 + \varepsilon = l_1 : l_2$$

und

$$1,0187 : 1,0187 - \varepsilon = l_1 : l_3$$

oder

$$\varepsilon = 1,0187 \cdot \frac{l_2 - l_1}{l_1} \text{ Volt.}$$

und

$$\varepsilon = 1,0187 \cdot \frac{l_1 - l_3}{l_1} \text{ Volt.}$$

Das Mittel aus diesen beiden Werten wurde der weiteren Berechnung der gesuchten Konzentration des Silberions nach der oben abgeleiteten Formel zugrunde gelegt.

2. Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse.

Die auf diese Weise erhaltenen Versuchsergebnisse wurden der größeren Übersichtlichkeit wegen in ein Koordinatensystem eingetragen, auf dessen Abszissenachse der dekadische Logarithmus des Gehaltes der Lösungen an Silberpräparat und ihre hieraus berechnete Litrigkeit³⁾, auf deren Ordinatenachse der dekadische Logarithmus der bei den Bestimmungen erhaltenen

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 13, 597, 1894.

²⁾ Ebendasselbst 37, 641, 1901.

³⁾ Mit „Litrigkeit“ einer Lösung ist die Anzahl Liter bezeichnet, in der 1 g-Mol eines Stoffes gelöst ist.

Werte abgetragen ist. Da die Konzentration des Silberions in den untersuchten Lösungen nur sehr gering ist, wurde sie nicht in Gramm-Ion, sondern in Milligramm-Ion für 1 Liter angegeben. Während bei den Kurven „Präparat in wässriger Lösung“, sowie bei denen „Präparat in NaCl-Lösung“, „Präparat in Serum“, „Präparat in Eiweiß“ und „Präparat in Blut“ sich die durch elektrometrische Messung erhaltenen Größen des Silbergehaltes auf Milligramm-Ion in 1 Liter beziehen, geben die Punkte der Kurve „Ag-Gehalt der Lösungen“, deren auf analytischem Wege gefundenen Gesamtsilbergehalt in Milligramm-Atom für 1 Liter an, von dem naturgemäß in der Regel nur ein Teil in ionisiertem Zustande in der Lösung vorhanden ist. Wegen des beschränkten Raumes wurden nur einige Kurventafeln als typische Beispiele für das Verhalten der Silberpräparate ausgewählt.

3. Versuchsergebnisse.

Die Prüfung der Methode auf ihre Brauchbarkeit für den vorliegenden Zweck und auf ihre Genauigkeit geschah durch Messen der Konzentration des Silberions in Lösungen von Silbernitrat mit bekanntem Silberionengehalt, und zwar in rein wässriger Lösung, nach Zusatz von Natriumchlorid, Eiweißstoffen und anderen Komplexbildnern. Das hierzu verwendete Silbernitrat wurde durch Lösen chemisch reinen Silbers in verdünnter Salpetersäure hergestellt, das nach der von *L. Vansino*¹⁾ angegebenen Methode durch Reduktion von Silberchlorid mit alkalischer Formaldehydlösung gewonnen worden war. Die hierzu notwendigen Arbeiten wurden bei gelbem Licht im Dunkelraum unter peinlichster Abhaltung von Staub usw. ausgeführt. Das kristallisierte Salz war vollkommen farblos und zeigte gegen empfindliches Lackmuspapier neutrale Reaktion.

Als Lösungsmittel für das Silbersalz wurde gewöhnliches destilliertes Wasser und Leitfähigkeitswasser verwendet, welch letzteres nach der Vorschrift von *Th. Paul*²⁾ hergestellt war. Dessen spezifisches Leitvermögen ging auch bei längerer sachgemäßer Aufbewahrung nicht über $\kappa_{18} = 0,9 \cdot 10^{-6}$ hinaus, während das gewöhnliche destillierte Wasser ein solches von $\kappa_{18} = \text{etwa } 5 \cdot 10^{-6}$ hatte. Die Verdünnungen wurden so gewählt, daß sie einen Vergleich mit Konzentrationen ermöglichten, wie sie z. B. beim Einspritzen von Silberpräparaten in die Blutbahn erhalten werden. Würden z. B. einem Kranken mit 65 kg Körpergewicht 5 ccm einer Elektrokollargollösung mit einem Silbergehalt von 0,6 Proz. injiziert, so würde bei gleichmäßiger Durchmischung mit dem Gesamtkörperblut, das etwa $\frac{1}{13}$ des Körpergewichtes beträgt, eine Lösung entstehen, die in 5000 ccm Blut 0,03 g Silber enthält ($v = 17980$ Liter). Bei Verwendung von 5 ccm einer 0,06proz. Lösung desselben Präparates würde man eine Lösung $v = 179800$ Liter erhalten. Ausgehend von einer 100litrigen Silbernitratlösung wurden Verdünnungen bis herab zu $v = 204800$ Liter hergestellt, in deren Bereich die in obigem Beispiel angeführten Konzentrationen liegen. Während das Messen der stärkeren Konzentrationen keine Schwierigkeiten bereitete, konnte bei den größeren Verdünnungen von $v = 6400$ Liter ab der Ausschlag des Elektrometers nicht mehr genau innerhalb 2 mm des Meßdrahtes abgelesen werden. Da allem Anschein nach die bei diesen Verdünnungen vorhandene Ionenkonzentration nicht mehr ausreicht, um den Stoß von 96540 Coulomb für 1 g-Äquivalent deutlich anzuzeigen,

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. **81**, II, 1765, 1898.

²⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. **20**, 179, 1914.

wurden zur Erhöhung der Leitfähigkeit der Lösung 50 Vol.-Proz. 0,01 n.-Kaliumnitratlösung zugegeben und so erreicht, daß die Ablesung wieder rasch und innerhalb einiger Zehntelmillimeter des Meßdrahtes vorgenommen werden konnte. Auch wurde dadurch die Dauer des einzelnen Versuchs wesentlich abgekürzt, die sich schon bei gut leitenden Lösungen oft über einige Stunden erstreckte, ehe die Konstanz von ϵ_c den eingetretenen Gleichgewichtszustand anzeigte. Bei den stärksten Verdünnungen ($v = 51\,200, 102\,400, 204\,800$ Liter) waren die Abweichungen der aus zweit, mitunter aus drei Zellen erhaltenen Messungen von dem daraus berechneten Mittelwert reichlich groß und schwankten zwischen 10 bis 14 Millivolt, während sie sich bei den vorhergehenden Verdünnungen meist zwischen 1 bis 6 Millivolt hielten.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle I zusammengestellt und in Abb. 2 graphisch zur Anschauung gebracht. Spalte 3 der Tabelle gibt die Ionenkonzentration der wässrigen Silbernitratlösungen an, wie sie sich aus dem Dissoziationsgrad γ nach den Tabellen von *F. Kohlrausch* und *L. Holborn*¹⁾ berechnen. Wie aus der Tabelle und der Kurventafel zu ersehen ist, weisen die mit Leitfähigkeitswasser und gewöhnlichem destillierten Wasser hergestellten Lösungen keine nennenswerten Unterschiede auf. Die beiden Kurven liegen dicht beieinander oder fallen zusammen. Auch durch Zusatz von verdünnter Kaliumnitratlösung tritt keine Abweichung gegenüber den wässrigen Lösungsmitteln ein. Die Kurven der Messungen liegen sämtlich etwas über der mit den berechneten Werten. Diese entsprechen für die 100ltrige Lösung einer Silberion-Konzentration von $9,3 \cdot 10^6$, für die 204800ltrige einer solchen von $6,0 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter, während die entsprechenden Werte der Versuche für die 100ltrige Lösung $1,4 \cdot 10^4$ (Leitfähigkeitswasser) und $1,3 \cdot 10^4$ (gewöhnliches destilliertes Wasser) und für die 204800ltrige $6,9 \cdot 10^{-3}$ (verdünnte Kaliumnitratlösung) betragen. Für die 6400ltrige Lösung fallen jedoch sämtliche Punkte nahezu zusammen.

Verdünnungen über $v = 204800$ ($[Ag^+] = \text{etwa } 6,0 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter) hinaus konnten nicht mehr sicher gemessen werden, da hierbei die Nullstellung des Elektrometers zu großen Schwankungen unterworfen war. Es ist anzunehmen, daß sich schon hier die elektrolytische Lösungstension des Silbermetalls in der silberarmen Lösung bemerkbar macht, die auch in Lösungen ohne Silberzusatz ein ϵ_c entstehen ließ²⁾.

¹⁾ Das Leitvermögen der Elektrolyte. Leipzig und Berlin, B. G. Teubner, 1916, S. 166 u. 214.

²⁾ Da bei den vorliegenden Messungen die atmosphärische Luft nicht ausgeschaltet war, wurden vergleichende Versuche in einer Atmosphäre von Wasserstoff, Stickstoff, Kohlendioxyd im Vergleich mit Luft angestellt. Diese führten zu dem Ergebnis, daß das Auftreten eines Potentials in silberfreien Lösungen sehr wahrscheinlich nicht auf den Einfluß der atmosphärischen Luft zurückzuführen ist. Hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden.

Tabelle I.

Elektrometrische Bestimmung der Konzentration des Silberions $[Ag^+]$ in Lösungen von Silbernitrat in reinem Wasser, in KNO_3 - und $NaCl$ -Lösungen sowie in Rinderblutserum. $\left(\frac{\text{Liter}}{\text{g-Mol}}\right) (v) = 100 \text{ bis } 204\,800$.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Versuch	$AgNO_3$ -Konzentration $\left(\frac{\text{Liter}}{\text{g-Mol}}\right) (v)$	$[Ag^+]$ (mg-Ion in 1 Liter)							
		berechnet aus dem beobachteten Potential (e_0) in den Lösungen in						berechnet für	
		berechnet aus dem Dissoziationsgrad (ν)	Leitfähigkeitswasser ($\kappa_{18} = 0,9 \cdot 10^{-6}$)	gewöhnlich destilliertem Wasser ($\kappa_{18} = 5 \cdot 10^{-6}$)	Kaliumnitratlösung $KNO_3 = 0,005n$	Natriumchloridlösung $NaCl v = 2,11,96$ Liter	Rinderblutserum	wässrige $AgCl$ -Lösung	$AgCl$ -Lösung bei Gegenwart von $NaCl$ $v = 2,11,96$ Liter
1	ohne Zusatz von $AgNO_3$								
2	100	$9,3 \cdot 10^0$	$3,5 \cdot 10^{-3}$	$3,3 \cdot 10^{-3}$	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$1,8 \cdot 10^{-6}$	$1,4 \cdot 10^{-8}$	—	—
3	200	$4,7 \cdot 10^0$	$1,4 \cdot 10^1$	$1,3 \cdot 10^1$	—	$5,2 \cdot 10^{-6}$	$4,7 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$3,6 \cdot 10^{-6}$
4	400	$2,4 \cdot 10^0$	$6,9 \cdot 10^0$	$6,6 \cdot 10^0$	—	$5,0 \cdot 10^{-6}$	$3,8 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$3,4 \cdot 10^{-6}$
5	800	$1,2 \cdot 10^0$	$3,5 \cdot 10^0$	$3,5 \cdot 10^0$	—	$4,2 \cdot 10^{-6}$	$2,9 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,9 \cdot 10^{-6}$
6	1600	$6,1 \cdot 10^{-1}$	$1,6 \cdot 10^0$	$1,7 \cdot 10^0$	—	$4,5 \cdot 10^{-6}$	$3,2 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
7	3200	$3,1 \cdot 10^{-1}$	$8,7 \cdot 10^{-1}$	$8,6 \cdot 10^{-1}$	—	$4,1 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
8	6400	$1,6 \cdot 10^{-1}$	$4,2 \cdot 10^{-1}$	$3,8 \cdot 10^{-1}$	—	$3,4 \cdot 10^{-6}$	$3,2 \cdot 10^{-7}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
9	12800	$9,3 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-1}$	$1,7 \cdot 10^{-1}$	—	$3,4 \cdot 10^{-6}$	$5,4 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
10	25600	$4,7 \cdot 10^{-2}$	—	—	$1,1 \cdot 10^{-1}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$	$4,4 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
11	51200	$2,4 \cdot 10^{-2}$	—	—	$5,1 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
12	102400	$1,2 \cdot 10^{-2}$	—	—	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-6}$	$2,2 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
13	204800	$6,0 \cdot 10^{-3}$	—	—	$1,5 \cdot 10^{-2}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$2,0 \cdot 10^{-8}$	$8,8 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
					$6,9 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-8}$	$5,2 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$

so daß die hieraus berechnete Konzentration des Silberions als scheinbare Nullwerte betrachtet und durch Verbinden der links abseits der Kurven eingezeichneten Punkte mit denen für $v = 204800$ Liter erhalten werden können, welche die wahrscheinliche Lage der Werte von größeren Verdünnungen erkennen lassen.

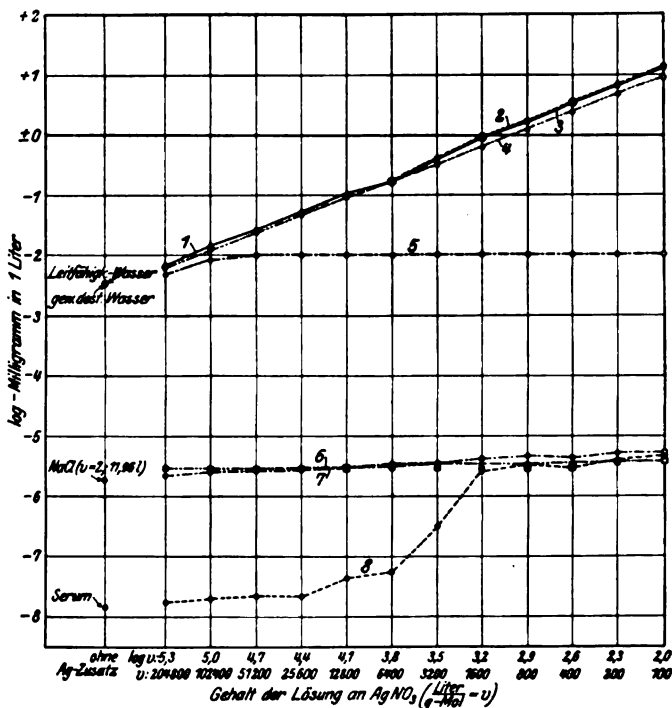


Abb. 2. Konzentration des Silberions in Lösungen von Silbernitrat in Wasser, Kaliumnitrat-, lösung, Natriumchloridlösung, Rinderserum. (Graphische Darstellung zu Tabelle I)

- 1 Δ — Δ AgNO_3 in 0,005 n. KNO_3 -Lösung (mg-Ion).
- 2 $\circ$ — $\circ$ AgNO_3 in Leitfähigkeitswasser (mg-Ion).
- 3 $\circ$ — $\circ$ AgNO_3 in gewöhnlichem destillierten Wasser (mg-Ion).
- 4 $\circ$ — $\circ$ Gehalt der Lösungen an Ag^+ (mg-Ion) berechnet.
- 5 $\circ$ — $\circ$ Gehalt der AgCl -Lösungen in Wasser an Ag^+ (mg-Ion) berechnet.
- 6 $\square$ — $\square$ AgNO_3 in NaCl ($v = 2 \times 11,96$) (mg-Ion) berechnet.
- 7 $\circ$ — $\circ$ AgNO_3 in NaCl ($v = 2 \times 11,96$) (mg-Ion).
- 8 $\circ$ — $\circ$ AgNO_3 in Serum (mg-Ion).

Doch konnten, wie bereits hier erwähnt werden soll, auch bedeutend niedrigere Silberion-Konzentrationen als $6,0 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter mit großer Schärfe gemessen werden, ohne daß Störungen auftraten. Dabei handelte es sich jedoch um Lösungen, die Stoffe im Überschuß enthielten, welche mit Silber komplexe Verbindungen bilden, wie z. B. Eiweißstoffe und Kaliumcyanid. Hierbei ist anzunehmen, daß die infolge der elektrolytischen Lösungstension in der Oberflächen-

schicht der Silberelektrode auftretenden Silberionen rasch in Komplexe übergeführt werden und keinen Anlaß zu Störungen bei Ausführung der Messungen geben können.

Hieraus folgt, daß das angewandte Verfahren zur Bestimmung der Silberion-Konzentration für den vorliegenden Zweck brauchbar ist.

Wird eine Silberlösung mit Blut oder Serum, die bei diesen Versuchen als Typus der Gewebssäfte angenommen werden sollen, zusammengebracht, so bilden sich Silberchlorid und Silbereiweißverbindungen, die bei entsprechend großen Mengen als Niederschlag ausfallen. Für das Silberchlorid tritt dieser Fall dann ein, wenn das Produkt an Silber- und an Chlorionen den Wert des Löslichkeitsproduktes des Silberchlorids übersteigt. Dieses hat nach *F. Kohlrausch*¹⁾ den Wert von $1,0 \cdot 10^{-10}$ oder, auf Milligramm-Ion bezogen, $1,0 \cdot 10^{-4}$. Der Chlorgehalt des Rinderblutserums betrug bei mehreren Analysen im Mittel in 50 ccm 0,2444 g auf NaCl berechnet; dieses Serum entspricht demnach einer 11,98litrigen Natriumchloridlösung. Im Menschenblutserum wurden an Chlor bei mehreren Analysen im Mittel in 50 ccm 0,2966 g auf NaCl berechnet gefunden, so daß der Chlorgehalt hier einer 9,86litrigen Natriumchloridlösung entspricht. In Form von Natriumchlorid ist das Chlor auch im wesentlichen im Blutserum des Menschen und des Rindes vorhanden. Da das Natriumchlorid bei obigen Konzentrationen zu etwa 85 Proz. dissoziiert ist²⁾, so beträgt die Konzentration des Chlorions in dem Serum des Rinder- bzw. Menschenblutes 71,1 bzw. 86,2 mg-Ion in 1 Liter. Eine Ausfällung von Silberchlorid auf Zusatz von Silbernitrat zum Serum müßte demnach dann eintreten, wenn die Konzentration des Silberions größer ist als $1,4 \cdot 10^{-6}$ bzw. $1,2 \cdot 10^{-6}$ mg-Ion in 1 Liter Serum. Nun ist aber in den beim Einspritzen von Lösungen der Silberpräparate in die Blutbahn entstehenden oder in den entsprechend in vitro bereiteten Lösungen der Gehalt an Chlorid stets wesentlich höher, als zur Bildung des aus dem vorhandenen Silber entstehenden Silberchlorids notwendig wäre. Infolge der dadurch bedingten Zurückdrängung der Dissoziation wird eine Ausfällung von Silberchlorid schon bei viel geringerer Silberion-Konzentration eintreten, als sie obiger Rechnung entspricht, oder, wenn es kolloid in Lösung geht, eine entsprechend niedrigere Silberion-Konzentration vorhanden bleiben, da ein Teil der Ionen zu nicht-dissoziierten Molekeln zusammentritt.

Das gleiche gilt auch für die Silbereiweißverbindungen, die ihrerseits wieder durch die im Serum vorhandene überschüssige Eiweißmenge eine Zurückdrängung der Dissoziation erleiden, da sie sich

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 50, 356, 1905.

²⁾ *F. Kohlrausch* und *H. Holborn*, Das Leitvermögen der Elektrolyte 1916, S. 166, 214, 215.

ähnlich wie schwerlösliche Silbersalze verhalten. Im Vergleich zum Chlorsilber sind sie wesentlich leichter löslich, so daß beim Zusatz von Silberlösung zu Blutflüssigkeit die Fällung des Silberchlorids viel früher auftritt als die Eiweißfällung.

Die Ausführung der Bestimmung der Silberion-Konzentration in Natriumchlorid und Eiweiß enthaltenden Silberlösungen geschah in derselben Weise wie in den rein wässrigen Lösungen. Auch war der Silbergehalt der gleiche. Da sich festes Silbernitrat in eiweißhaltigen Körperflüssigkeiten nur schwierig löst, wurde in der Weise verfahren, daß die abgemessene Menge einer konzentrierten Silbernitratlösung mit 12,5 ccm Serum bzw. Natriumchloridlösung ($v = 11,96$ Liter) vermischt und mit Wasser auf das Volumen 25 ccm gebracht wurde. Das Gemisch enthielt also 50 Vol.-Proz. Serum. Hierauf schüttelte man die Flüssigkeit samt Niederschlag 3 Minuten lang kräftig durch, um ein Gleichgewicht in dem Reaktionsgemisch herbeizuführen. Dies ist deshalb notwendig, weil beim Zufügen der Silbernitratlösung lokale Übersättigung an Silber auftreten kann, wobei auch leichtlösliche Niederschläge entstehen, die sich beim Schütteln zugunsten der schwerer löslichen wieder auflösen. Dann wurde das Reaktionsgemisch noch eine Viertelstunde lang im Thermostaten bei $+18^{\circ}$ stehengelassen, um die Versuchsbedingungen möglichst gleichartig zu gestalten. Bei den stärkeren Konzentrationen hatten sich im Einklang mit obigen Berechnungen dicke weiße Niederschläge schwer löslicher Silberverbindungen gebildet, die mit steigender Verdünnung immer geringer wurden, bis schließlich die Gemische mit geringstem Silbergehalt nur noch opaleszierende Trübung zeigten. Während der Messungen selbst traten Schwierigkeiten nicht auf; die Gleichgewichte stellten sich meist innerhalb 1 Stunde zur Konstanz des ϵ_c ein.

Die durch Messung gefundenen Werte der Silberion-Konzentrationen sind in den Spalten 7 und 8 der Tabelle I eingetragen. Die Mischungen mit reiner Natriumchloridlösung zeigen zwar mit abnehmendem Gehalt an Silber auch abnehmende Silberion-Konzentration. Jedoch ist der Unterschied zwischen dem für die stärkste — 100ltrige — Lösung gefundenen Wert von $5,2 \cdot 10^{-6}$ und dem der schwächsten — 204800ltrigen — von $2,2 \cdot 10^{-6}$ so gering, daß die Konstanz, die sich bei den mittleren Verdünnungen $v = 1600$ und $v = 3200$ zu genau $3,4 \cdot 10^{-6}$ ergibt, auch bei den übrigen nahe erhalten bleibt. Spalte 10 enthält die berechneten Werte, die mit analoger Benutzung der von Th. Paul¹⁾ zur Ermittlung der Silberion-Konzentration in gesättigter wässriger Lösung von Silberacetat nach Zusatz von äquivalenten Mengen Natriumacetat mitgeteilten Formel die Konzentrationen des Silberions angeben, wie sie in den Gemischen mit Silbernitrat bei einem gegebenen Überschuß von Natriumchlorid in wässriger Lösung vorhanden sind. Die 100ltrige Lösung z. B. enthält im Liter 1,6989 g

¹⁾ Nahrungsmittelchemie mit besonderer Berücksichtigung der modernen physikalisch-chemischen Lehren. Akad. Verlagsbuchhandlung, Leipzig 1914, S. 61.

Silbernitrat, entsprechend 1,433 g Silberchlorid. Da ihr 50 Vol.-Proz. Natriumchloridlösung $v = 11,96$ Liter zugemischt wurden, sind darin 2,443 g NaCl vorhanden, von denen 0,5845 g zur Bildung von Silberchlorid verbraucht werden. Das überschüssige Natriumchlorid entspricht einer 31,45ltrigen Lösung und ist zu annähernd 98 Proz. dissoziiert. Aus diesen Zahlen errechnet sich — unter Verwendung des Wertes von $1,0 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion in 1 Liter für die Konzentration des Silberions in gesättigter AgCl-Lösung — eine Silberion-Konzentration von $3,6 \cdot 10^{-6}$ mg-Ion in 1 Liter. Diese nimmt bis zur Verdünnung $v = 800$ in geringem Maße von $3,6 \cdot 10^{-6}$ bis $2,8 \cdot 10^{-6}$ ab, um von da an konstant auf diesem Werte zu bleiben.

Die zugehörigen Kurven der Abb. 2 lassen erkennen, daß auch hier die Abweichungen der beobachteten Werte von den berechneten im gleichen Sinne wie bei den rein wässrigen Lösungen auftreten.

Ein wesentlich anderes Bild geben die Bestimmungen im Blutserum. Die Anfangskonzentrationen $v = 100$ bis $v = 1600$ verlaufen zwar noch annähernd parallel mit denen in reiner Natriumchloridlösung und haben auch unter sich noch die gleiche Größenordnung, $4,7 \cdot 10^{-6}$ bis $2,5 \cdot 10^{-6}$. Von da an fällt jedoch $[Ag^+]$ steil ab bis $5,4 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion in 1 Liter für die 6400ltrige Lösung, um von $v = 25600$ an wieder auf konstantem Werte, nämlich $2 \cdot 10^{-8}$, zu bleiben.

Die Lage der „Nullpunkte“ läßt vermuten, daß stärkere Verdünnungen sowohl mit reiner Natriumchloridlösung wie mit Serum sich in derselben Größenordnung wie die 204800ltrige Lösung halten werden.

Gegenüber den wässrigen Lösungen ist die Dissoziation des salpetersauren Silbers in den Natriumchloridlösungen (Spalte 7) auf etwa den 3000. Teil in der Verdünnung $v = 204800$ Liter und auf den 2500000. Teil in der Verdünnung $v = 100$ Liter gesunken. Im Serum ist der Sprung für die 204800ltrige Lösung sogar noch bedeutend größer, da sie nur noch den 406000. Teil der in der wässrigen Lösung vorhandenen Silberionen enthält. Benutzt man für die in der gesättigten Silberchloridlösung vorhandene Konzentration des Silberions den Wert von $1,0 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion in 1 Liter zur Berechnung der $[Ag^+]$ von Silberchlorid in wässrigen Lösungen, die den Versuchslösungen entsprechende Litrigkeit haben, so erhält man die in Spalte 9 der Tabelle I aufgeführten Zahlen und die ihnen entsprechende Kurve der Abb. 2. Beim Vergleich der darauf eingezeichneten Punkte mit den durch Rechnung gefundenen Werten der Silberion-Konzentration in Lösungen von Silbernitrat in überschüssiger Natriumchloridlösung der Spalte 10 tritt die Zurückdrängung der Ionisation durch den Überschuß an Natriumchlorid deutlich hervor. In der 100ltrigen Lösung geht sie auf etwa den 3000. Teil, in der 204800ltrigen auf den 1750. Teil der in der wässrigen

Lösung vorhandenen zurück. Die durch Messung gefundenen Werte stimmen mit den berechneten befriedigend überein. Noch größer werden die Unterschiede in den Lösungen von Silbernitrat in Serum. Während in der 100ltrigen Lösung die Silberion-Konzentration im Serum nur etwa ein Zehntel kleiner ist als die in der überschüssigen Natriumchloridlösung und wie diese etwa den 2000. Teil von der in wässriger Silberchloridlösung berechneten beträgt, sinkt sie bei den stärkeren Verdünnungen im Serum so weit herab, daß in der 204800ltrigen Lösung nur noch der 1300. Teil der in überschüssiger Natriumchloridlösung vorhandenen und der 290000. Teil der in wässriger Silberchloridlösung berechneten Menge an Silberion gefunden wurde.

Die bei den stärkeren Konzentrationen zwar unbedeutenden, mit größeren Verdünnungen aber rasch anwachsenden Unterschiede zwischen den Silberion-Konzentrationen der gleichen Lösung in Natriumchlorid und in Serum können nicht auf Rechnung des Chlorgehaltes gesetzt werden, der ja in beiden Fällen gleich groß war. Vielmehr wird man hier an die anderen im Serum enthaltenen Stoffe, in erster Linie an die Eiweißverbindungen zu denken haben, die mit abnehmendem Silbergehalt der Lösung ihren Einfluß immer stärker geltend machen, bis sich bei den schwächsten Lösungen Konstanz einstellt. Offensichtlich beruht dieser Einfluß darauf, daß diese Stoffe im Wettstreit mit den Chlorionen eine entsprechende Menge der Silberionen an sich reißen und damit komplexe Verbindungen eingehen.

Die Größe dieses Einflusses sollte durch nachfolgende Versuche mit Eiweißlösungen klargestellt werden.

Es wurde hierzu frisches Hühnereiweiß benutzt, das nach sorgfältigem Trennen des Dotters mit Glasscherben zerrieben und nach dem Absitzenlassen mit so viel Wasser verdünnt wurde, daß eine 10proz. Eiweißlösung entstand. Um den Einfluß der Chlorionen feststellen zu können, wurde ebenso vorbereitetes Hühnereiweiß in einem nach *Wo. Ostwald*¹⁾ hergestellten Kollodiumfilter bis zum Verschwinden der Chlorreaktion dialysiert und dann mit Wasser auf einen Gehalt von 10 Proz. Eiweiß verdünnt. Zu je 20 ccm dieser Eiweißlösungen wurden steigende Mengen — 0,01 bis 5 ccm — 0,01 n.-Silbernitratlösung zugesetzt und mit Wasser auf das Volumen von 25 ccm aufgefüllt. Nach dem Mischen wurden die Lösungen in gleicher Weise wie bei den Versuchen mit Natriumchlorid und Serum zur Erreichung des Gleichgewichts im Reaktionsgemisch weiter behandelt.

Die Messungsergebnisse zeigt Tabelle II und Abb. 3. In beiden Eiweißlösungen wird das zugesetzte Silber vom Eiweiß in sehr beträchtlichen Mengen gebunden. In den Lösungen mit dialysiertem Eiweiß zeigen die stärkeren Verdünnungen den annähernd konstanten Wert von etwa $4 \cdot 10^{-7}$, während sie sich in denen mit nichtdialysiertem

¹⁾ Kolloid-Zeitschr. 22, 72, 1918.

Tabelle II.

Elektrometrische Bestimmung der Konzentration des Silberions $[Ag^+]$ in Lösungen von Silbernitrat in Eiweißlösungen.

1	2	3	4	5	6
Versuch	Menge des zugesetzten $AgNO_3$			$[Ag^+]$ (mg-Ion in 1 Liter)	
	25 ccm der Lösung enthalten ccm 0,01 n. $AgNO_3$	mg-Atom Ag in 1 Liter	Liter g-Mol (v)	im dialysierten Eiweiß	im nichtdialysierten Eiweiß
1	0,01	$4 \cdot 10^{-3}$	250 000	$4,4 \cdot 10^{-7}$	$1,0 \cdot 10^{-7}$
2	0,05	$2 \cdot 10^{-2}$	50 000	$4,3 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-7}$
3	0,1	$4 \cdot 10^{-2}$	25 000	$3,0 \cdot 10^{-7}$	$1,2 \cdot 10^{-7}$
4	0,5	$2 \cdot 10^{-1}$	5 000	$3,8 \cdot 10^{-7}$	$1,2 \cdot 10^{-7}$
5	1,0	$4 \cdot 10^{-1}$	2 500	$1,7 \cdot 10^{-6}$	$1,4 \cdot 10^{-7}$
6	5,0	$2 \cdot 10^0$	500	$1,5 \cdot 10^{-1}$	$6,9 \cdot 10^{-5}$

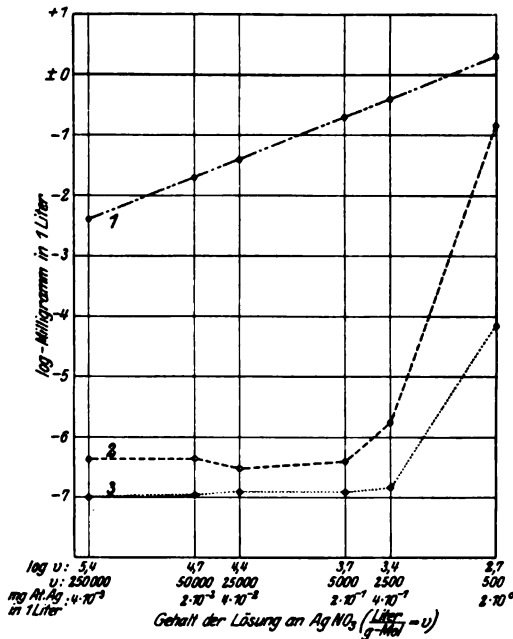


Abb. 3. Konzentration des Silberions in Lösungen von Silbernitrat in Eiweißlösungen. (Graphische Darstellung zu Tabelle II.)

- 1 ○ — — — ○ Ag-Gehalt der Eiweißlösungen (mg-Atom).
 2 ○ — — — ○ $AgNO_3$ in dialysiertem Eiweiß (mg-Ion).
 3 ○ — — — ○ $AgNO_3$ in nichtdialysiertem Eiweiß (mg-Ion).

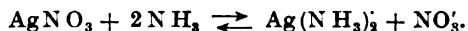
Eiweiß um etwa $1 \cdot 10^{-7}$ bewegen. Sobald aber die Silbermenge über die Konzentration von $2 \cdot 10^{-1}$ mg-Atom Ag in 1 Liter (dialysiertes Eiweiß) bzw. $4 \cdot 10^{-1}$ (nichtdialysiertes Eiweiß) hinausgeht, steigt die Kurve steil an und nähert sich rasch dem Gesamtsilbergehalt der

Lösung. Die Kurve des nichtdialysierten Eiweißes geht mit der des dialysierten ziemlich parallel; nur liegt sie durchweg tiefer. Es ist wahrscheinlich, daß die im ursprünglichen Eiweiß vorhandenen Chlorionen die Konzentration des Silberions noch weiter herabdrücken, als dies durch das Eiweiß allein geschieht.

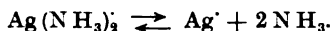
Demnach tritt das Silber, wenn es mit viel Natriumchlorid und Eiweiß enthaltenden Lösungen, wie sie in den Körperflüssigkeiten vorliegen, in Berührung kommt, mit diesen Stoffen in erheblichem Maße zu wenig dissoziierten Verbindungen zusammen, deren komplexer Charakter dadurch deutlich zum Ausdruck kommt.

Ein großer Teil der in der Heilkunde verwendeten Silberpräparate enthält das Silber in Form komplexer Verbindungen, denen die unangenehmen Eigenschaften des salpetersauren Silbersalzes, das Gewebe anzugreifen und Schmerzen zu verursachen, nicht zukommt, und bei deren Anwendung die Wirkung des Silbers sich auch auf tiefere Gewebsschichten erstreckt. Eine der ersten Verbindungen dieser Art war das Argentamin, das durch Auflösen von phosphorsaurem Silber in einer wässerigen Äthylendiaminlösung hergestellt wird. Beim Auflösen solcher Verbindungen bilden sich komplexe Ionen, in denen das Silber mit einem Rest vereinigt ist. Außer mit Ammoniak und seinen Derivaten bildet das Silberion mit einigen Säure-Ionen, z. B. dem Cyan- und Thiosulfation, komplexe Ionen von großer Beständigkeit, die sich demgemäß auch beim Lösen schwerlöslicher Silbersalze in Ammoniak bzw. in Salzen vorfinden, welche die genannten Ionen enthalten.

Über die Konstitution der Lösungen von komplexen Silberverbindungen, insbesondere in Ammoniak und dessen organischen Abkömmlingen haben die Untersuchungen verschiedener Forscher¹⁾ Klarheit gebracht. Danach gestaltet sich die Konstitution der Lösung einer Silberverbindung wie z. B. des Silbernitrates in überschüssigem Ammoniak nach folgendem Schema:



Das komplexe Ion $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ zerfällt dann weiterhin nach dem Schema:



Dieser Zerfall findet aber nur in sehr geringem Maße statt, so daß sich bald ein Gleichgewichtszustand einstellt. Zwischen den Konzentrationen der vorhandenen Ionenarten besteht dann folgende Beziehung:

$$[\text{Ag}^+] = K \cdot \frac{[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+]}{[\text{NH}_3]^2}.$$

Die Konzentration des komplexen Ions $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ entspricht praktisch der Gesamtmenge des vorhandenen Silbers, sie wird beim Verdünnen dieser Lösung auf das Doppelte oder allgemein auf das n -fache Volumen auf die Hälfte oder den n -ten Teil sinken. Enthält jedoch die Lösung einen sehr großen Überschuß an Ammoniak, dann wird beim Verdünnen auf das n -fache die Konzentration des Ammoniaks auf den n^2 -ten, die Konzentration

¹⁾ H. Euler, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **36**, 1854 u. 2878, 1903; **37**, 1711 u. 2768, 1904; G. Bodländer und R. Fittig, Zeitschr. f. physikal. Chem. **89**, 597, 1902; G. Bodländer und W. Eberlein, Zeitschr. f. anorg. Chem. **89**, 197, 1904.

des komplexen Ions $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+$ und damit die ihr proportionale Konzentration des Silberions auf den n ten Teil sinken. Der Nenner des Bruches wird also um das n fache kleiner als der Zähler, wodurch der Wert des Bruches im ganzen und infolgedessen die ihm proportionale Konzentration des Silberions um das n fache höher wird. Hiermit stehen auch die von *Th. Paul*¹⁾ gefundenen Ergebnisse in Übereinstimmung, die er beim Messen von Silber-Ammoniakverbindungen nach der elektrometrischen Methode erhalten hat.

Um zu prüfen, wie sich komplexe Silberverbindungen bei Gegenwart von Körperflüssigkeiten verhalten, wurden Versuche mit 10proz. Lösungen von nichtdialysiertem, also chloridhaltigem Eiweiß angestellt und die Konzentration des Silberions bestimmt, wenn der durch Silbernitrat erzeugte Niederschlag durch Komplexbildner wieder zur Lösung gebracht wird. Die Konzentrationen des Silbernitrates waren dieselben wie in den Versuchen der Tabelle II. Um in allen Lösungen dieselbe Menge an Eiweiß zu erhalten, wurden je 10 ccm einer 20proz. Eiweißlösung mit steigenden Mengen Silbernitrat versetzt und kräftig durchgeschüttelt; hierauf wurde tropfenweise so lange 1 n.-Ammoniaklösung hinzugefügt, bis sich die ausgeschiedenen Silberverbindungen wieder gelöst hatten. Um genügend großen Überschuß an Ammoniak zu erhalten, und die Versuchsbedingungen einheitlich zu gestalten, wurde in jedem Falle dieselbe Menge von 10 ccm der 1 n.-Ammoniaklösung verwendet und mit Wasser zum Volumen von 25 ccm aufgefüllt. In gleicher Weise wurde beim Lösen des Silberniederschlags durch 0,1 n.-Natriumthiosulfatlösung und durch 0,005 n.-Kaliumcyanidlösung verfahren, von welcher letzterer jedoch jeweils 12 ccm zugefügt wurden. Um Anhaltspunkte für die Größe der durch die Komplexbildung verursachten Verminderung der Silberion-Konzentration zu erhalten, wurden Lösungen von Silbernitrat in Wasser mit und ohne Zusatz von Komplexbildnern hergestellt und darin die Silberion-Konzentration bestimmt. Während die Gemische mit Ammoniak und Kaliumcyanid beim Stehen vollkommen klar blieben, traten in denen des Natriumthiosulfats, besonders in den konzentrierteren Lösungen nach einiger Zeit gelbliche bis braune Auscheidungen auf, die wahrscheinlich aus Verbindungen des Silbers mit Zersetzungsprodukten des Natriumthiosulfats bestanden.

Die bei diesen Versuchen erhaltenen Ergebnisse sind in den Tabellen III, IV und V eingetragen. In den eiweißfreien Lösungen (Tabelle IV) zeigt die starke Verminderung der Silberion-Konzentration die Komplexbildung deutlich an. Während in der rein wässrigen Lösung von Silbernitrat $v = 500$ Liter (Tabelle III) der Gehalt an Silberion zu $2,9 \cdot 10^0$ mg-Ion in 1 Liter gefunden wurde, beträgt er bei Gegenwart von überschüssigem Ammoniak nur mehr $3,8 \cdot 10^{-6}$. Beim Verdünnen fällt er aber in den wässrigen Lösungen stärker als in denen mit Ammoniak, dessen Überschuß gegenüber dem Silber mit zunehmender Verdünnung immer größer wird, da die Menge des Ammoniaks in allen Lösungen dieselbe ist. Während in der 500ltrigen Lösung die Konzentration des Silberions in Wasser etwa das 763000fache von der in Ammoniak beträgt, ist in der 50000ltrigen Lösung in Wasser nur mehr etwa 326000-, in der 250000ltrigen Lösung nur mehr an-

¹⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. 18, 521, 1912.

nähernd 134 000mal soviel Silberion als in der ammoniakalischen Lösung vorhanden.

Tabelle III.

Elektrometrische Bestimmung der Konzentration des Silberions $[Ag^+]$ in Lösungen von Silbernitrat in Wasser. $\left(\frac{\text{Liter}}{\text{g-Mol}} (v) = 500 \text{ bis } 250\,000\right)$.

1	2	3	4	5
Versuch	Menge des zugesetzten $AgNO_3$			$[Ag^+]$ (mg-Ion in 1 Liter)
	25 ccm Lösung enthalten ccm 0,01 n.- $AgNO_3$	mg-Atom Ag in 1 Liter	Liter g-Mol (v)	
1	0,01	$4 \cdot 10^{-3}$	250 000	$5,5 \cdot 10^{-3}$
2	0,05	$2 \cdot 10^{-2}$	50 000	$2,1 \cdot 10^{-2}$
3	0,1	$4 \cdot 10^{-2}$	25 000	$4,9 \cdot 10^{-2}$
4	0,5	$2 \cdot 10^{-1}$	5 000	$2,6 \cdot 10^{-1}$
5	1,0	$4 \cdot 10^{-1}$	2 500	$5,7 \cdot 10^{-1}$
6	5,0	$2 \cdot 10^0$	500	$2,9 \cdot 10^0$

Tabelle IV.

Elektrometrische Bestimmung der Konzentration des Silberions $[Ag^+]$ in Lösungen von Silbernitrat in Wasser mit Zusatz von überschüssiger Ammoniak-, Natriumthiosulfat-, Kaliumcyanidlösung.

In 25 ccm Lösung sind enthalten 10 ccm 1 n.-Ammoniaklösung bzw. 10 ccm 0,1 n.-Natriumthiosulfatlösung bzw. 12 ccm 0,005 n.-Kaliumcyanidlösung.

1	2	3	4	5	6	7
Versuch	Menge des zugesetzten $AgNO_3$			$[Ag^+]$ (mg-Ion in 1 Liter) in den Lösungen mit		
	25 ccm der Lösung enthalten ccm 0,01 n.- $AgNO_3$	mg-Atom Ag in 1 Liter	Liter g-Mol (v)	Ammoniak	Natriumthio- sulfat	Kaliumcyanid
1	0,01	$4 \cdot 10^{-3}$	250 000	$4,1 \cdot 10^{-8}$	$8,3 \cdot 10^{-12}$	$8,9 \cdot 10^{-17}$
2	0,05	$2 \cdot 10^{-2}$	50 000	$6,3 \cdot 10^{-8}$	$8,1 \cdot 10^{-12}$	$8,9 \cdot 10^{-17}$
3	0,1	$4 \cdot 10^{-2}$	25 000	$1,1 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-11}$	$7,4 \cdot 10^{-17}$
4	0,5	$2 \cdot 10^{-1}$	5 000	$5,2 \cdot 10^{-7}$	$4,5 \cdot 10^{-11}$	$1,0 \cdot 10^{-16}$
5	1,0	$4 \cdot 10^{-1}$	2 500	$1,1 \cdot 10^{-6}$	$5,1 \cdot 10^{-11}$	$1,4 \cdot 10^{-16}$
6	5,0	$2 \cdot 10^0$	500	$3,8 \cdot 10^{-6}$	$3,5 \cdot 10^{-10}$	$3,5 \cdot 10^{-13}$

Durch überschüssiges Thiosulfat sinkt die Konzentration des Silberions noch weiter als durch Ammoniak herab. In der 500litrigen Lösung hat sie den Wert von $3,5 \cdot 10^{-10}$, der beim Verdünnen auf $8,3 \cdot 10^{-12}$ in der 25000litrigen Lösung fällt.

In den Lösungen mit überschüssigem Kaliumcyanid haben die geringen Silberkonzentrationen $v = 250\,000$ Liter und $v = 50\,000$ Liter denselben Ionengehalt von $8,9 \cdot 10^{-17}$ mg-Ion Ag^+ in 1 Liter, also noch bedeutend weniger als die in überschüssigem Thiosulfat. Bei weiterem Zusatz von Silbernitrat steigt die Kurve der Cyankalium enthaltenden

Tabelle V.

Elektrometrische Bestimmung der Konzentration des Silberions $[Ag']$ in Lösungen von Silbernitrat in Eiweißlösung mit Zusatz von überschüssiger Ammoniak-, Natriumthiosulfat-, Kaliumcyanidlösung.

In 25 ccm Lösung sind enthalten 10 ccm 1 n.-Ammoniaklösung bzw. 10 ccm 0,1 n.-Natriumthiosulfatlösung bzw. 12 ccm 0,005 n.-Kaliumcyanidlösung.

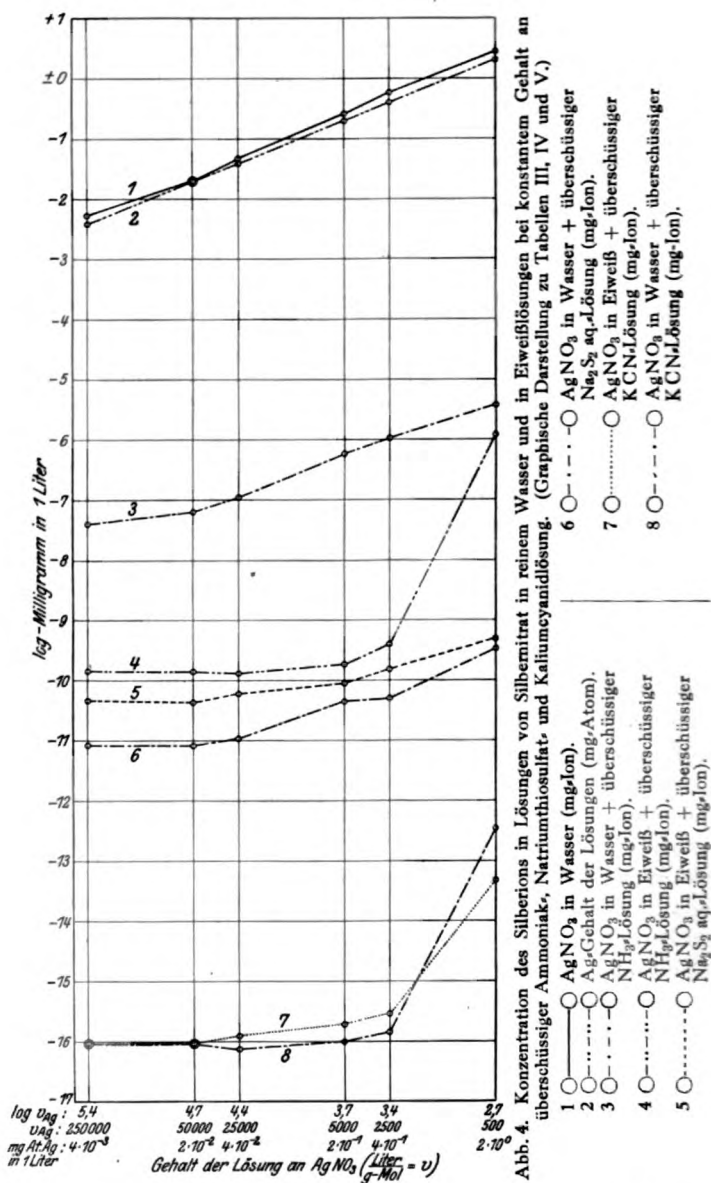
1	2	3	4	5	6	7
	Menge des zugesetzten $AgNO_3$			$[Ag']$ (mg-Ion in 1 Liter) in den Lösungen mit		
Versuch	25 ccm der Lösung enthalten ccm 0,01 n.- $AgNO_3$	mg-Atom Ag in 1 Liter	Liter $\frac{g}{Mol}$ (v)	Ammoniak	Natriumthiosulfat	Kaliumcyanid
1	0,01	$4 \cdot 10^{-3}$	250 000	$1,4 \cdot 10^{-10}$	$4,7 \cdot 10^{-11}$	$8,9 \cdot 10^{-17}$
2	0,05	$2 \cdot 10^{-2}$	50 000	$1,4 \cdot 10^{-10}$	$4,3 \cdot 10^{-11}$	$9,3 \cdot 10^{-17}$
3	0,1	$4 \cdot 10^{-2}$	25 000	$1,3 \cdot 10^{-10}$	$6,0 \cdot 10^{-11}$	$1,2 \cdot 10^{-16}$
4	0,5	$2 \cdot 10^{-1}$	5 000	$1,8 \cdot 10^{-10}$	$8,9 \cdot 10^{-11}$	$1,8 \cdot 10^{-16}$
5	1,0	$4 \cdot 10^{-1}$	2 500	$4,0 \cdot 10^{-10}$	$1,5 \cdot 10^{-10}$	$2,8 \cdot 10^{-16}$
6	5,0	$2 \cdot 10^0$	500	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$5,1 \cdot 10^{-10}$	$4,9 \cdot 10^{-14}$

Lösungen zunächst langsam bis $1,4 \cdot 10^{-16}$ in der 2500ltrigen und dann steil an bis $3,5 \cdot 10^{-13}$ in der 500ltrigen Lösung.

Bei Zusatz von Eiweiß ändert sich die Silberion-Konzentration der Komplexbildner enthaltenden Lösungen in verschiedener Weise (Tabelle V, Abb. 4). In stark verdünnten ammoniakalischen Lösungen wird die Silberion-Konzentration so weit vermindert, daß sie auf $1,4 \cdot 10^{-10}$ mg-Ion Ag' in 1 Liter sinkt. Dieser Wert bleibt bei steigendem Zusatz von Silbernitrat nahezu unverändert erhalten und nimmt erst in der 2500ltrigen Lösung etwas zu. Von hier an steigt die Kurve aber steil an bis $1,2 \cdot 10^{-6}$ mg-Ion in 1 Liter in der 500ltrigen Lösung, wobei sie sich dem in Wasser erhaltenen Wert stark nähert.

Bei den Gemischen mit Natriumthiosulfat liegen die Kurven der rein wässerigen und der eiweißhaltigen Lösungen einander viel näher als bei den Gemischen mit Ammoniak und zeigen einen ziemlich gleichmäßigen Verlauf. Jedoch sind hier die Werte für die eiweißhaltigen Gemische höher als die für die wässerigen. Wieweit die Konzentration des Silberions durch die eintretenden Zersetzungen beeinflußt wurde, läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen. Auch bei den Gemischen mit Kaliumcyanid liegt die Kurve für die Eiweißgemische meist über derjenigen für die wässerigen Lösungen. In den Gemischen dieses Komplexbildners ist die Konzentration des Silberions so weit gesunken, daß sie in der 250000ltrigen Lösung nur noch $8,9 \cdot 10^{-17}$ mg-Ion in 1 Liter beträgt. Auf weiteren Zusatz von Silbernitrat wird sie zwar etwas höher, erreicht aber auch in der konzentriertesten Lösung $v = 500$ Liter mit $3,5 \cdot 10^{-13}$ in Wasser und $4,9 \cdot 10^{-14}$ mg-Ion in Eiweiß noch nicht den Wert des verdünntesten Gemisches mit Natrium-

thiosulfat. In den Lösungen mit Kaliumcyanid ist demnach das Silber weitaus am komplexesten gebunden.



Die Untersuchungen von Silbernitratlösungen in Eiweiß mit Zusatz komplexe Ionen bildender Stoffe zeigen also, daß auch in

natriumchlorid- und eiweißhaltigen Flüssigkeiten die Theorien der komplexen Ionen Geltung haben. Da diese Flüssigkeiten mit einem Hauptbestandteil der Gewebssäfte ausmachen, so können diese Anschauungen auch bei den Untersuchungen der Silberpräparate in Blut oder Serum Anwendung finden und zur Beurteilung ihres Verhaltens bei ihrer medizinischen Anwendung herangezogen werden, zumal da eine große Zahl von ihnen das Metall in komplexer Form enthält.

II. Die Konzentration des Silberions von komplexen und kolloiden Silberpräparaten in wässriger Lösung.

1. Versuchsanordnung.

Der Gesamt Silbergehalt der meisten Präparate wurde gewichtsanalytisch und titrimetrisch nach der im Deutschen Arzneibuch, V. Ausgabe, bei Protargol angegebenen Ammoniumrhodanid-Methode bestimmt. Dagegen wurde beim Kollargol das vom Deutschen Arzneibuch hierfür vorgeschriebene Verfahren benutzt und bei Silbersalvarsan wegen seines Arsengehaltes eine andere Methode gewählt. Nach den Versuchen von A. Binz¹⁾ wird aus dieser Verbindung das Silber durch Behandeln mit Perhydrol, konzentrierter Salpetersäure und Natriumhypochloritlösung als Chlorsilber abgeschieden, wobei gleichzeitig das Arsen abgespalten wird, das mit Magnesiamischung oder als Sulfid bestimmt werden kann. Zur Nachprüfung dieser Methode wurden abgemessene Silber- und Arsenmengen mit organischer Substanz (einige Tropfen Anilin) erhitzt und nach längerem Stehen nach der Binzschen Methode bestimmt. Wie die nachfolgenden Zahlen ersehen lassen, stimmen die gefundenen Werte mit den berechneten befriedigend überein.

1. Bestimmung in Gemischen mit Anilin:

Versuch	Ag		As	
	berechnet	gefunden	berechnet	gefunden
I.	0,0781	0,0769	0,0494	0,0479
II.	0,0626	0,0609	0,0401	0,0385

2. Bestimmung in Silbersalvarsan (Natriumverbindung):

Ver- such	Angewandtes Silbersalvarsan	Ag gefunden			As gefunden		
			Proz.	Mittel Proz.		Proz.	Mittel Proz.
I.	0,2998	0,0408	13,61	13,70	0,0648	21,61	21,83
II.	0,3001	0,0414	13,79		0,0662	22,06	

2. Versuchsergebnisse.

Die bei den Messungen der Silberpräparate in wässriger Lösung erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß sich die Silberion-Konzentration beim Verdünnen der Lösungen in sehr verschiedener Weise ändert.

¹⁾ Arbeiten aus dem k. Institut f. exper. Therapie zu Frankfurt a. M. 7, 43, 1919.

In dieser Hinsicht lassen sich die hier angeführten Präparate nach den von Th. Paul¹⁾ angegebenen Gesichtspunkten in drei Gruppen einteilen:

- a) Silberpräparate, in deren wässriger Lösung bei steigender Konzentration die Silberion-Konzentration zunimmt.
 - b) Silberpräparate, in deren wässriger Lösung bei steigender Konzentration die Silberion-Konzentration annähernd gleichbleibt.
 - c) Silberpräparate, in deren wässriger Lösung bei steigender Konzentration die Silberion-Konzentration abnimmt.
- a) Silberpräparate, in deren wässriger Lösung bei steigender Konzentration die Silberion-Konzentration zunimmt.

Unter die erste Gruppe fallen von den untersuchten Präparaten Argoplex, Argochrom, Argoflavin und Protargol.

Tabelle VI.

Argoplex. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Silbergehalt des Präparates: 10,30 Proz.

1	2	3	4	5
Gehalt an Argoplex (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in		
		Wasser	Na Cl-Lösung v = 2 · 11,96 Liter	Serum
4	3,8 · 10 ¹	2,6 · 10 ¹	7,0 · 10 ⁻⁵	2,2 · 10 ⁻⁵
2	1,9 · 10 ¹	1,7 · 10 ¹	1,7 · 10 ⁻⁵	1,0 · 10 ⁻⁵
1	9,5 · 10 ⁰	9,5 · 10 ⁰	1,0 · 10 ⁻⁵	6,5 · 10 ⁻⁶
0,5	4,8 · 10 ⁰	5,3 · 10 ⁰	8,5 · 10 ⁻⁶	6,4 · 10 ⁻⁶
0,25	2,4 · 10 ⁰	2,8 · 10 ⁰	8,0 · 10 ⁻⁶	6,4 · 10 ⁻⁶
0,125	1,2 · 10 ⁰	1,3 · 10 ⁰	7,8 · 10 ⁻⁶	6,0 · 10 ⁻⁶
0,063	6,0 · 10 ⁻¹	6,4 · 10 ⁻¹	7,6 · 10 ⁻⁶	5,9 · 10 ⁻⁶
0,031	3,0 · 10 ⁻¹	3,1 · 10 ⁻¹	7,3 · 10 ⁻⁶	4,7 · 10 ⁻⁶

1. Argoplex ist ein weißes, kristallines, in Wasser leicht lösliches Pulver von salzartigem Aussehen. Die wässrige Lösung ist gegen Lichtstrahlen ziemlich empfindlich und scheidet beim Stehen in weißen Gläsern schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit schwarze Teilchen von reduziertem Silber aus. Der Silbergehalt wurde zu 10,30 Proz. gefunden. Die bei den Messungen der wässrigen Lösungen erhaltenen Werte sind in der Tabelle VI und auf Abb. 5 eingetragen. In der 4proz. Lösung sind von dem Gesamtsilber etwa 68 Proz. als Ion vorhanden. Mit zunehmender Verdünnung steigt der Ionengehalt zunächst auf etwas über 116 Proz. an, um bei der größten Verdünnung bis auf 104,4 Proz. zurückzugehen. Dieser Verlauf spricht dafür, daß das

¹⁾ A. a. O., S. 526.

Argoplex den Charakter eines normalen Silbersalzes hat und infolge dessen kein typisches komplexes oder kolloides Silberpräparat ist.

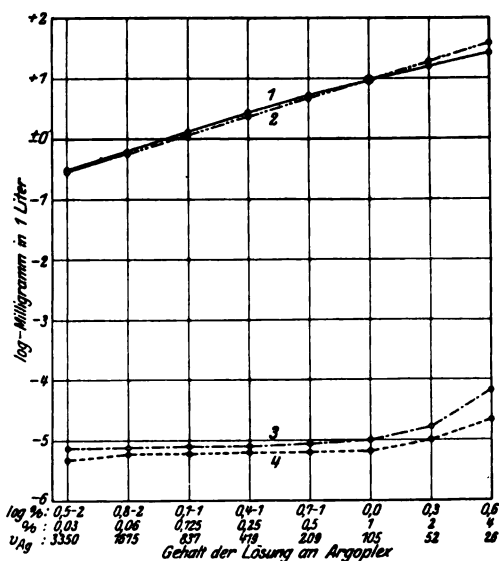


Abb. 5. Argoplex. Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung ($v = 2 \times 11,96$ Liter) und in Rinderserum. (Graphische Darstellung zu Tabelle VI.)

- 1 ○ — ○ Argoplex in wässriger Lösung (mg·lon).
 2 ○ - - - ○ Ag-Gehalt der Argoplexlösungen (mg·Atom).
 3 ○ · · · · ○ Argoplex in NaCl-Lösung (mg·lon).
 4 ○ — — ○ Argoplex in Serum (mg·lon).

2. *Argochrom* (Methylenblausilber). Das untersuchte Präparat hatte einen Silbergehalt von 22,09 Proz. Hinsichtlich der Silberion-Konzentration (Tabelle VII) in den wässrigen Lösungen ähnelt es dem Argoplex. Eine Erklärung für die abnorm hohen Werte bis 203,8 Proz. des Gesamtsilbergehaltes konnte bisher nicht gefunden werden.

Tabelle VII. *Argochrom*. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum. Silbergehalt des Präparates: 22,09 Proz.

1 Gehalt an Argochrom (g in 100 ccm)	2 Silbergehalt (mg·Atom in 1 Liter)	3 [Ag ⁺] (mg·lon in 1 Liter) der Lösungen in		
		Wasser	NaCl-Lösung $v = 2 \cdot 11,96$ Liter	Serum
2	$4,1 \cdot 10^1$	$4,8 \cdot 10^1$	$4,1 \cdot 10^{-4}$	$8,6 \cdot 10^{-5}$
1	$2,1 \cdot 10^1$	$3,3 \cdot 10^1$	$3,7 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$
0,5	$1,0 \cdot 10^1$	$1,8 \cdot 10^1$	$2,4 \cdot 10^{-5}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$
0,25	$5,1 \cdot 10^0$	$9,0 \cdot 10^0$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$
0,125	$2,6 \cdot 10^0$	$5,3 \cdot 10^0$	$1,3 \cdot 10^{-5}$	$1,3 \cdot 10^{-5}$
0,063	$1,3 \cdot 10^0$	$1,4 \cdot 10^0$	$1,6 \cdot 10^{-5}$	$1,3 \cdot 10^{-5}$
0,031	$6,4 \cdot 10^{-1}$	$5,7 \cdot 10^{-1}$	$1,6 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$

3. *Argoßavin* ist ein in wässrigen Lösungen stark gefärbtes Silberpräparat, das in großen Verdünnungen lebhaft fluoresziert. Beim Erhitzen bläht es sich auf; beim Glühen verpufft es unter Entwicklung gelber Dämpfe. Aus diesem Grunde mußte zur Bestimmung des Silbergehaltes die organische Substanz durch nasse Veraschung mit Salpeterschwefelsäure zerstört werden. 100 Teile Argoßavin enthielten 20,97 Teile Silber. In Wasser ist es verhältnismäßig schwer löslich; die kalt gesättigte Lösung von 0,5 Proz. scheidet mit der Zeit einen festen Stoff aus, der durch schwaches Erwärmen wieder zur Lösung gebracht werden kann. Hinsichtlich des Silberionengehaltes in den wässrigen Lösungen (Tabelle VIII) verhält es sich ähnlich wie Argoplex.

Tabelle VIII.

Argoßavin. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Silbergehalt des Präparates: 20,97 Proz.

1	2	3	4	5
Gehalt an Argoßavin (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in		
		Wasser	Na Cl-Lösung $v = 2.11,96$ Liter	Serum
0,5	9,7 · 10 ⁰	1,2 · 10 ¹	1,2 · 10 ⁻⁵	1,0 · 10 ⁻⁵
0,25	4,9 · 10 ⁰	5,9 · 10 ⁰	1,1 · 10 ⁻⁵	8,5 · 10 ⁻⁶
0,125	2,4 · 10 ⁰	2,7 · 10 ⁰	1,1 · 10 ⁻⁵	8,1 · 10 ⁻⁶
0,063	1,2 · 10 ⁰	1,4 · 10 ⁰	1,0 · 10 ⁻⁵	7,1 · 10 ⁻⁶
0,031	6,1 · 10 ⁻¹	7,5 · 10 ⁻¹	9,9 · 10 ⁻⁶	6,5 · 10 ⁻⁶
0,016	3,0 · 10 ⁻¹	3,3 · 10 ⁻¹	7,6 · 10 ⁻⁶	6,0 · 10 ⁻⁶
0,008	1,5 · 10 ⁻¹	1,6 · 10 ⁻¹	5,7 · 10 ⁻⁶	5,3 · 10 ⁻⁶

Tabelle IX.

Protargol. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung, in Rinderblutserum und in Eiweißlösung.

Silbergehalt des Präparates: 8,3 Proz.

1	2	3	4	5	6
Gehalt an Protargol (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in			
		Wasser	Na Cl-Lösung $v = 2.11,96$ Liter	Serum	Eiweißlösung
4	3,1 · 10 ¹	4,2 · 10 ⁰	2,6 · 10 ⁻⁵	1,2 · 10 ⁻⁵	2,7 · 10 ⁻⁴
2	1,5 · 10 ¹	2,9 · 10 ⁰	1,0 · 10 ⁻⁵	7,0 · 10 ⁻⁶	2,3 · 10 ⁻⁵
1	7,7 · 10 ⁰	2,2 · 10 ⁰	8,3 · 10 ⁻⁶	6,6 · 10 ⁻⁶	1,7 · 10 ⁻⁵
0,5	3,8 · 10 ⁰	1,4 · 10 ⁰	7,9 · 10 ⁻⁶	6,0 · 10 ⁻⁶	1,5 · 10 ⁻⁶
0,25	1,9 · 10 ⁰	9,3 · 10 ⁻¹	7,9 · 10 ⁻⁶	6,0 · 10 ⁻⁶	1,4 · 10 ⁻⁶
0,125	9,6 · 10 ⁻¹	6,0 · 10 ⁻¹	7,0 · 10 ⁻⁶	5,4 · 10 ⁻⁶	1,2 · 10 ⁻⁶
0,063	4,8 · 10 ⁻¹	3,2 · 10 ⁻¹	5,6 · 10 ⁻⁶	4,5 · 10 ⁻⁶	2,6 · 10 ⁻⁷

4. *Protargol*, das Albumosesilber des Deutschen Arzneibuches. Das untersuchte Präparat stammte aus den Farbenfabriken vorm. Bayer & Cie in Elberfeld. Der Silbergehalt betrug 8,3 Proz. In den wässrigen

Lösungen (Tabelle IX, Abb. 6) ist das Silber nur zum Teil im Ionen-zustand (13,6 bis 66,7 Proz.) vorhanden. In den Verdünnungen der 4- bis 0,063proz. Lösungen sinkt die Konzentration des Silberions von $4,2 \cdot 10^0$ bis $3,2 \cdot 10^{-1}$ mg-Ion in 1 Liter.

Außer dem hier beschriebenen Protargolpräparat kamen noch ein zweites Präparat der Firma Bayer & Cie. sowie zwei weitere Handelspräparate von Albumosesilber zur Untersuchung. Die zahlreichen Arbeiten¹⁾, die über die quantitative Bestimmung des Silbers in medizinischen Silberpräparaten veröffentlicht sind, lassen erkennen, daß einerseits die amtlichen im Deutschen Arzneibuche aufgenommenen Methoden keineswegs immer befriedigende Ergebnisse zeitigen. Andererseits weisen oft die verschiedenen Sorten ein und desselben Präparates je nach dem Herstellungsverfahren einen mitunter beträchtlichen Unterschied im Silbergehalt auf, auch wenn letzterer nach der gleichen Methode ermittelt wurde. Folglich war zu erwarten, daß auch der Gehalt an Silberion mehr oder weniger großen Schwankungen unterworfen sein würde, abgesehen davon, daß auch die Herstellungsweise darauf von Einfluß sein wird. Zudem kann die Zusammensetzung eines Präparates auch durch auftretende Alterungserscheinungen eine Veränderung erleiden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen, die in der bereits erwähnten Weise in wässriger Lösung vorgenommen wurden, sind in Tabelle X zusammengestellt und in Abb. 7 graphisch aufgezeichnet. Der analytische Gesamtsilbergehalt ist in den Präparaten Protargol I und

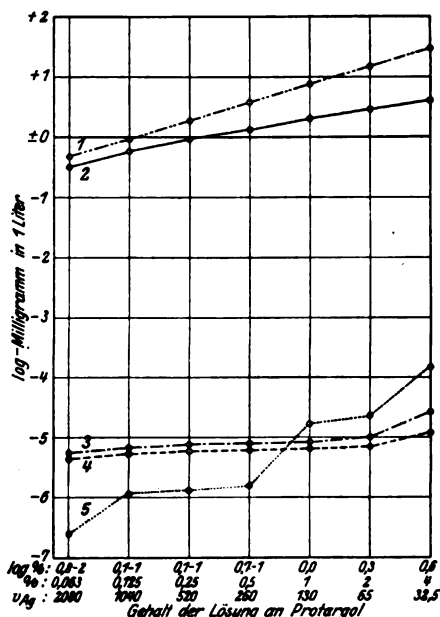


Abb. 6. Protargol. Silberions-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung ($v = 2 \times 11,96$ Liter), in Rinderblutserum und in 10proz. Eiweißlösung. (Graphische Darstellung zu Tabelle IX.)

- 1 ○ — — — — ○ Ag-Gehalt der Protargollösungen (mg-Atom).
- 2 ○ — — — — ○ Protargol in wässriger Lösung (mg-Ion).
- 3 ○ — — — — ○ Protargol in NaCl-Lösung (mg-Ion).
- 4 ○ — — — — ○ Protargol in Serum (mg-Ion).
- 5 ○ — — — — ○ Protargol in Eiweiß (mg-Ion).

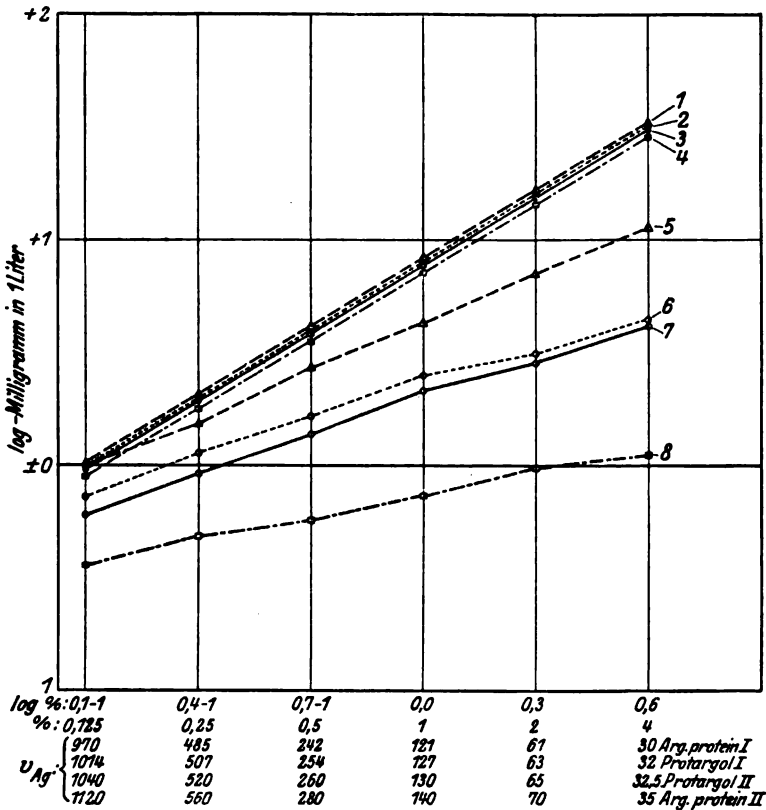
¹⁾ J. Marschner, Apotheker-Ztg. 27, 887, 1912; E. Rupp, ebenda 28, 17, 1913; P. W. Danckworth, Arch. d. Pharm. 252, 75, 1914; F. Lehmann, ebenda 258, 46, 1915; I. Herzog, ebenda 258, 441, 1915; u. a.

Tabelle X.
Protargolpräparate. Bestimmung der Silber-Konzentration in den wässrigen Lösungen
verschiedener Präparate.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Gehalt an Protargolpräparat (g in 100 ccm)	<i>Argentum proteinicum I</i> vom 27. I. 1922 Silbergehalt: 8,9 Proz.			<i>Protargol I</i> vom 3. XI. 1921 Silbergehalt: 8,5 Proz.			<i>Protargol II</i> vom 16. IV. 1921 Silbergehalt: 8,3 Proz.			<i>Argentum proteinicum II</i> vom 15. X. 1919 Silbergehalt: 7,7 Proz.		
	[Ag']			[Ag']			[Ag']			[Ag']		
	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Proz. des Silber-gehaltes	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Proz. des Silber-gehaltes	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Proz. des Silber-gehaltes	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Proz. des Silber-gehaltes	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Proz. des Silber-gehaltes	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Proz. des Silber-gehaltes
4	$3,3 \cdot 10^1$	33,3	$1,1 \cdot 10^1$	$3,2 \cdot 10^1$	$4,5 \cdot 10^0$	14,1	$3,1 \cdot 10^1$	$4,2 \cdot 10^0$	13,6	$2,9 \cdot 10^1$	$1,1 \cdot 10^0$	3,8
2	$1,7 \cdot 10^1$	42,4	$7,2 \cdot 10^0$	$1,6 \cdot 10^1$	$3,1 \cdot 10^0$	19,4	$1,5 \cdot 10^1$	$2,9 \cdot 10^0$	19,3	$1,4 \cdot 10^1$	$9,7 \cdot 10^{-1}$	6,9
1	$8,3 \cdot 10^0$	51,8	$4,3 \cdot 10^0$	$7,9 \cdot 10^0$	$2,5 \cdot 10^0$	31,6	$7,7 \cdot 10^0$	$2,2 \cdot 10^0$	28,6	$7,2 \cdot 10^0$	$7,4 \cdot 10^{-1}$	10,3
0,5	$4,1 \cdot 10^0$	65,9	$2,7 \cdot 10^0$	$3,9 \cdot 10^0$	$1,7 \cdot 10^0$	43,6	$3,8 \cdot 10^0$	$1,4 \cdot 10^0$	36,8	$3,6 \cdot 10^0$	$5,7 \cdot 10^{-1}$	15,8
0,25	$2,1 \cdot 10^0$	76,2	$1,6 \cdot 10^0$	$2,0 \cdot 10^0$	$1,2 \cdot 10^0$	60,0	$1,9 \cdot 10^0$	$9,3 \cdot 10^{-1}$	49,0	$1,8 \cdot 10^0$	$4,7 \cdot 10^{-1}$	26,2
0,125	$1,0 \cdot 10^0$	100,0	$1,0 \cdot 10^0$	$9,9 \cdot 10^{-1}$	$7,3 \cdot 10^{-1}$	73,7	$9,6 \cdot 10^{-1}$	$6,0 \cdot 10^{-1}$	62,5	$8,9 \cdot 10^{-1}$	$3,6 \cdot 10^{-1}$	40,4

Die untersuchten Präparate waren		bezogen am	untersucht am
1. Protargol I (Bayer)		3. XI. 1921	24. III. 1922
2. Protargol II (Bayer) (das zu den Untersuchungen der Tabelle IX benutzte Präparat)		16. IV. 1921	8. XII. 1921
3. Argentum proteinicum I		27. I. 1922	24. III. 1922
4. Argentum proteinicum II		15. X. 1919	24. III. 1922

Protargol II mit 8,5 und 8,3 Proz. fast gleich und steht etwa in der Mitte zwischen dem der beiden anderen Präparate, bei denen sich ein größerer Unterschied zeigt, Argent. proteinic. I mit 8,9 Proz. und Argent. proteinic. II mit 7,7 Proz. In der größten untersuchten Ver-



Gehalt der Lösung an Protargolpräparat.

Abb. 7. Protargolpräparate. Silberion-Konzentration der Lösungen verschiedener Präparate in Wasser. (Graphische Darstellung zu Tabelle X.)

- | | | | |
|---|-----------|---|-------------------------------------|
| 1 | Δ — — Δ | Argent. proteinic. I. | } Ag-Gehalt der Lösungen (mg-Atom). |
| 2 | ○ — — — ○ | Protargol I (Bayer). | |
| 3 | ○ — — — ○ | Protargol II (Bayer). | |
| 4 | □ — — — □ | Argent. proteinic. II. | |
| 5 | Δ — — — Δ | Argent. proteinic. I in wässriger Lösung (mg-Ion). | |
| 6 | ○ — — — ○ | Protargol I (Bayer) in wässriger Lösung (mg-Ion). | |
| 7 | ○ — — — ○ | Protargol II (Bayer) in wässriger Lösung (mg-Ion). | |
| 8 | □ — — — □ | Argent. proteinic. II in wässriger Lösung (mg-Ion). | |

dünnung von 0,125 Proz. wurde gefunden für Argent. proteinic. I $1,0 \cdot 10^0$, für Protargol I $7,3 \cdot 10^{-1}$, für Protargol II $6,0 \cdot 10^{-1}$ und für Argent. proteinic. II $3,6 \cdot 10^{-1}$ mg-Ion Silber in 1 Liter. Bei steigender Konzentration bleiben bei den Protargolpräparaten die Kurven der Silberion-Konzentration annähernd einander parallel und

nähern sich zuletzt etwas, bis sie in der 4proz. Lösung mit $4,5 \cdot 10^0$ und $4,2 \cdot 10^0$ fast zusammenfallen. Bei den Albumosesilberpräparaten gehen jedoch die Kurven immer mehr auseinander.

Diese Ergebnisse bestätigen zunächst, daß die verschiedenen Handelsmarken in ihrem Silbergehalt merkliche Unterschiede aufweisen. Ferner zeigt sich, daß die Silberion-Konzentration vom Silbergehalt des Präparates abhängt. Die Präparate mit größerem Silbergehalt haben auch eine größere Silberion-Konzentration. Untereinander weicht jedoch der Gehalt an Silberion bei gleichem Gehalt der Lösungen an Gesamtsilber wesentlich voneinander ab. Bisher war es auf Grund der rein chemischen Untersuchung nicht möglich, den Wirkungswert eines Silberpräparates, ausgedrückt durch die Silberion-Konzentration, anzugeben, was mit Hilfe der elektrometrischen Bestimmung verhältnismäßig leicht auszuführen ist.

b) Silberpräparate, in deren wässriger Lösung bei steigender Konzentration die Silberion-Konzentration annähernd gleichbleibt.

Bei den Präparaten der ersten Gruppe von meist salzartigem Charakter nimmt die Konzentration des Silberions mit steigender Konzentration des Präparates zu, da die durch die Abnahme des Dissoziationsgrades bedingte relative Vermehrung des Silberions stark in den Hintergrund tritt gegenüber ihrer Vermehrung infolge der Konzentrationszunahme des Präparates. Wir kommen nun zu Präparaten, bei denen die Fähigkeit, Silberionen zu bilden, so stark abnimmt, daß die infolge der Konzentrationszunahme des Präparates zu erwartende Vermehrung der Silberionen ausgeglichen wird. Infolgedessen bleibt die Silberion-Konzentration annähernd gleich und ist in weiten Grenzen von der Konzentration der Lösung unabhängig.

Tabelle XI.

Choleval. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Silbergehalt des Präparates: 9,47 Proz.

1	2	3	4	5	6
Gehalt an Choleval (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in			
		Wasser	Proz. des Silbergehaltes	NaCl-Lösung $v=2.11,96$ Liter	Serum
4	$3,5 \cdot 10^1$	$1,6 \cdot 10^{-1}$	0,5	$1,6 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-5}$
2	$1,8 \cdot 10^1$	$1,1 \cdot 10^{-1}$	0,6	$1,3 \cdot 10^{-5}$	$9,5 \cdot 10^{-6}$
1	$8,8 \cdot 10^0$	$9,5 \cdot 10^{-2}$	1,1	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$8,7 \cdot 10^{-6}$
0,5	$4,4 \cdot 10^0$	$8,9 \cdot 10^{-2}$	2,0	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,8 \cdot 10^{-6}$
0,25	$2,2 \cdot 10^0$	$9,0 \cdot 10^{-2}$	4,1	$9,3 \cdot 10^{-6}$	$9,0 \cdot 10^{-6}$
0,125	$1,1 \cdot 10^0$	$8,1 \cdot 10^{-2}$	7,4	$9,2 \cdot 10^{-6}$	$8,8 \cdot 10^{-6}$

Über die theoretische Begründung dieses Verhaltens, das besonders bei den Silber-Ammoniakverbindungen klar in die Erscheinung tritt und rechnerisch verfolgt werden kann, ist bereits oben die Rede gewesen.

Zu den Präparaten der zweiten Gruppe gehören Choleval, Elektrokollargol und Argoproton.

1. *Choleval*, das nach den Angaben im Schrifttum gallensaures Natrium enthält, hatte einen Silbergehalt von 9,47 Proz. Die 0,125proz. Lösung hat eine Silberion-Konzentration von $8,1 \cdot 10^{-2}$, die 2proz. eine solche von $11 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion Ag⁺ in 1 Liter, die also trotz der 16fachen Konzentration der Lösung annähernd gleichgeblieben ist (Tabelle XI).

2. *Elektrokollargol* ist nach den Angaben der herstellenden Firma eine durch Zerstäuben im elektrischen Lichtbogen hergestellte, kolloide Silberlösung, deren Silbergehalt zu 0,8 Proz. $= 7,8 \cdot 10^{-1}$ mg-Atom Ag in 1 Liter gefunden wurde. Die Silberion-Konzentration betrug in dieser als „100proz.“ bezeichneten (Ausgangs-) Lösung $1,6 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter. Diese änderte sich beim Verdünnen bis zur Konzentration von 3,13 Proz. der Ausgangslösung nur wenig, und zwar nach Tabelle XII in dem Sinne, daß sich mit steigender Verdünnung eine geringe Zunahme der Silberionen einstellte, so daß diese Konzentration den Wert $2,1 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion in 1 Liter erhielt. Beim weiteren Verdünnen bekommt die Kurve (Abb. 8) einen Knick, da der Gehalt an Silberionen bis auf $2,6 \cdot 10^{-4}$ mg-Ion in 1 Liter herabsinkt. Da sich bei der elektrometrischen Messung dieser Konzentration Unregelmäßigkeiten einstellten, die keine genügende Sicherheit der Bestimmung erlaubten, sind die entsprechenden Werte in der Tabelle in Klammern gesetzt.

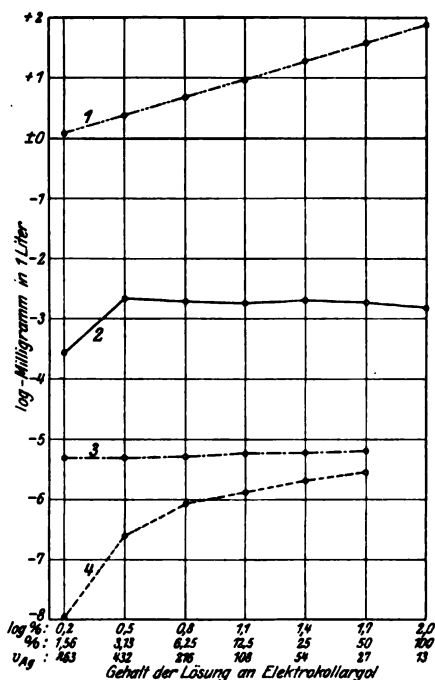


Abb. 8. *Elektrokollargol*. Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung ($v = 2 \times 11.96$ Liter) und in Rinderblutserum. (Graphische Darstellung zu Tabelle XII.)

- 1 ○ — — — — ○ Ag-Gehalt der Elektrokollargol-lösungen (mg-Atom).
- 2 ○ — — — — ○ Elektrokollargol in wässriger Lsg. (mg-Ion).
- 3 ○ — — — — ○ Elektrokollargol in NaCl-Lösung (mg-Ion).
- 4 ○ — — — — ○ Elektrokollargol in Serum (mg-Ion).

Tabelle XII.

Elektrokollargol. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Silbergehalt des Präparates: 0,8 Proz.

1	2	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in			
Gehalt an Elektrokollargol (ccm in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Wasser	Proz. des Silbergehaltes	NaCl-Lösung $v=2.11,96$ Liter	Serum
100	$7,8 \cdot 10^1$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	—	—
50	$3,9 \cdot 10^1$	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$6,4 \cdot 10^{-6}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$
25	$2,0 \cdot 10^1$	$2,0 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$6,1 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-6}$
12,5	$9,3 \cdot 10^0$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$6,1 \cdot 10^{-6}$	$1,3 \cdot 10^{-6}$
6,25	$4,7 \cdot 10^0$	$2,0 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$5,2 \cdot 10^{-6}$	$8,4 \cdot 10^{-7}$
3,13	$2,3 \cdot 10^0$	$2,1 \cdot 10^{-3}$	$9 \cdot 10^{-2}$	$5,1 \cdot 10^{-6}$	$2,6 \cdot 10^{-7}$
(1,56)	$1,2 \cdot 10^0$	$2,6 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$5,0 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-8}$

3. *Argoproton* hatte einen Silbergehalt von 11,79 Proz. Das Gleichbleiben der Silberion-Konzentration zeigt sich sehr deutlich beim Vergleich der beiden Endkonzentrationen; während die Konzentration des Präparates auf das 128fache zugenommen hat, war die Silberion-Konzentration zu Anfang $1,8 \cdot 10^{-1}$ und zum Schluß $1,6 \cdot 10^{-1}$ mg-Ion in 1 Liter.

Tabelle XIII.

Argoproton. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum.

Silbergehalt des Präparates: 11,79 Proz.

1	2	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in			
Gehalt an Argoproton (g in 100 ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	Wasser	Proz. des Silbergehaltes	NaCl-Lösung $v=2.11,96$ Liter	Serum
4	$4,4 \cdot 10^1$	$1,6 \cdot 10^{-1}$	0,4	—	—
2	$2,2 \cdot 10^1$	$2,2 \cdot 10^{-1}$	1,0	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-5}$
1	$1,1 \cdot 10^1$	$4,4 \cdot 10^{-1}$	4,0	$9,9 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$
0,5	$5,5 \cdot 10^0$	$6,3 \cdot 10^{-1}$	11,5	$9,4 \cdot 10^{-6}$	$9,5 \cdot 10^{-6}$
0,25	$2,7 \cdot 10^0$	$6,9 \cdot 10^{-1}$	25,6	$9,1 \cdot 10^{-6}$	$9,6 \cdot 10^{-6}$
0,125	$1,4 \cdot 10^0$	$4,5 \cdot 10^{-1}$	32,2	$8,3 \cdot 10^{-6}$	$9,0 \cdot 10^{-6}$
0,063	$6,8 \cdot 10^{-1}$	$2,2 \cdot 10^{-1}$	32,4	$7,8 \cdot 10^{-6}$	$7,5 \cdot 10^{-6}$
0,031	$3,4 \cdot 10^{-1}$	$1,8 \cdot 10^{-1}$	52,9	$7,8 \cdot 10^{-6}$	$5,7 \cdot 10^{-6}$

c) Silberpräparate, in deren wässriger Lösung bei steigender Konzentration die Silberion-Konzentration abnimmt.

Hierher gehören Kollargol, das bereits früher¹⁾ nach dieser Richtung untersucht war, und Silbersalvarsan.

¹⁾ A. a. O., S. 527.

1. *Kollargol* besteht aus etwa 3 Teilen kolloidalem Silber und 1 Teil abgebauten Eiweißstoffe. Von den zwei zu den Untersuchungen benutzten Präparaten war das erste (I) — am 24. April 1922 bezogen —

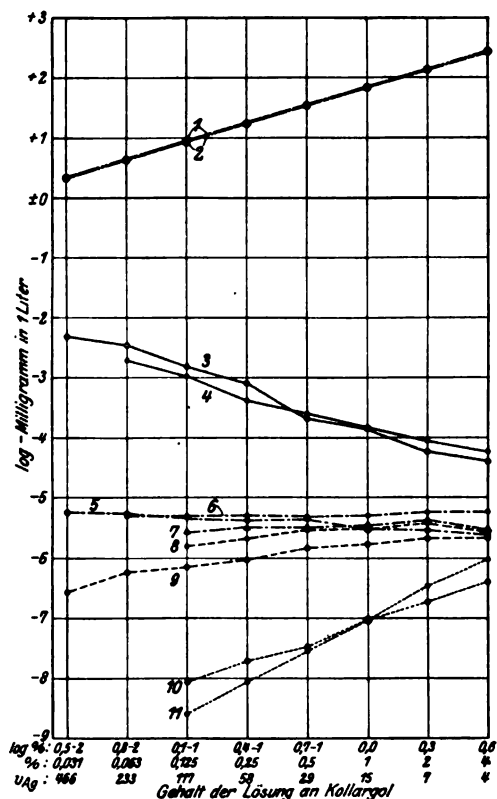


Abb. 9. *Kollargol*präparate. Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösungen ($v = 2 \times 9,86$ Liter und $v = 2 \times 11,96$ Liter), in Menschen- und Rinderblutserum und in Menschenblut. (Graphische Darstellung zu Tabelle XIV.)

- 1 ●-----● Kollargol I.
- 2 ○-----○ Kollargol II.
- 3 ○-----○ Kollargol II in wässriger Lösung (mg-Ion).
- 4 ●-----● Kollargol I in wässriger Lösung (mg-Ion).
- 5 (-----○ Kollargol II in $2 \times 11,96$ Litern NaCl-Lösung (mg-Ion).
- 6 ●-----● Kollargol I in $2 \times 11,96$ Litern NaCl-Lösung (mg-Ion).
- 7 Δ-----Δ Kollargol I in $2 \times 9,86$ Litern NaCl-Lösung (mg-Ion).
- 8 ●-----● Kollargol I in Menschenserum (mg-Ion).
- 9 ○-----○ Kollargol II in Rinderblutserum (mg-Ion).
- 10 ○-----○ Kollargol II in Blut (mg-Ion).
- 11 ●-----● Kollargol I in Blut (mg-Ion).

in Ampullen zu 1 g abgefüllt. Es zeigte in mehreren Stichproben mit minimalen Abweichungen einen Silbergehalt von 74,03 Proz. im Mittel. Das zweite (II) in 50-g-Originalpackung am 24. Juli 1922 bezogene

Tabelle XIV.

Kollargolpräparate. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösungen, in Menschen- und in Rinderblutserum und in Blut. Silbergehalt des Präparates I: 74,03 Proz., II: 74,00 Proz.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Gehalt der Lösung an Kollargol (g in 100ccm)			Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)		[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in							
			Wasser		NaCl-Lösg. v = 2,986 Liter		NaCl-Lösg. v = 2,11,96 Liter		Serum		Blut	
			I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
4	2,8. 10 ²	2,7. 10 ²	5,8. 10 ⁻⁵	4,2. 10 ⁻⁵	2,8. 10 ⁻⁶	5,8. 10 ⁻⁶	2,3. 10 ⁻⁶	2,7. 10 ⁻⁶	2,1. 10 ⁻⁶	9,5. 10 ⁻⁷	3,8. 10 ⁻⁷	
2	1,4. 10 ²	1,4. 10 ²	8,9. 10 ⁻⁵	5,8. 10 ⁻⁵	4,2. 10 ⁻⁶	5,7. 10 ⁻⁶	2,9. 10 ⁻⁶	3,6. 10 ⁻⁶	2,2. 10 ⁻⁶	3,5. 10 ⁻⁷	2,0. 10 ⁻⁷	
1	6,9. 10 ¹	6,9. 10 ¹	1,4. 10 ⁻⁴	1,4. 10 ⁻⁴	3,2. 10 ⁻⁶	5,0. 10 ⁻⁶	3,0. 10 ⁻⁶	3,0. 10 ⁻⁶	1,6. 10 ⁻⁶	9,1. 10 ⁻⁸	8,9. 10 ⁻⁸	
0,5	3,4. 10 ¹	3,4. 10 ¹	2,5. 10 ⁻⁴	2,1. 10 ⁻⁴	3,2. 10 ⁻⁶	4,8. 10 ⁻⁶	4,3. 10 ⁻⁶	2,8. 10 ⁻⁶	1,4. 10 ⁻⁶	2,8. 10 ⁻⁸	3,2. 10 ⁻⁸	
0,25	1,7. 10 ¹	1,7. 10 ¹	4,3. 10 ⁻⁴	8,2. 10 ⁻⁴	3,1. 10 ⁻⁶	5,1. 10 ⁻⁶	4,3. 10 ⁻⁶	2,1. 10 ⁻⁶	9,3. 10 ⁻⁷	8,7. 10 ⁻⁹	1,9. 10 ⁻⁸	
0,125	8,6. 10 ⁰	8,6. 10 ⁰	1,1. 10 ⁻³	1,5. 10 ⁻³	2,6. 10 ⁻⁶	5,1. 10 ⁻⁶	4,7. 10 ⁻⁶	1,5. 10 ⁻⁶	7,0. 10 ⁻⁷	2,5. 10 ⁻⁹	8,7. 10 ⁻⁹	
0,063	4,3. 10 ⁰	4,3. 10 ⁰	1,9. 10 ⁻³	3,5. 10 ⁻³	—	4,9. 10 ⁻⁶	5,5. 10 ⁻⁶	—	5,7. 10 ⁻⁷	—	—	
0,031	2,1. 10 ⁰	2,1. 10 ⁰	—	5,0. 10 ⁻³	—	—	5,7. 10 ⁻⁶	—	2,7. 10 ⁻⁷	—	—	

Präparat hatte fast genau denselben Silbergehalt von 74,00 Proz. Die bei der elektrometrischen Bestimmung ermittelten Werte sind in Tabelle XIV zusammengestellt und in die Abb. 9 eingezeichnet. Bei Präparat I fällt die Silberion-Konzentration von $1,9 \cdot 10^{-3}$ in der 0,063proz. bis auf $5,8 \cdot 10^{-5}$ mg-Ion in der 4proz. Lösung. Die Kurve nimmt, von geringen Abweichungen abgesehen, einen linearen Verlauf. Die von Präparat II schlägt zwar im allgemeinen die gleiche Richtung ein, doch liegen die Werte der schwächeren Konzentration — bis zu 0,25 Proz. — etwas darüber, die der stärkeren — von 0,5 Proz. an — etwas darunter. In der 0,063proz. Lösung beträgt der Gehalt an Silberionen $3,5 \cdot 10^{-3}$, in der 4proz. nur noch $4,2 \cdot 10^{-5}$.

Die Ergebnisse dieser Versuche bestätigen von neuem, daß die Silberion-Konzentration in den Lösungen der Silberpräparate nicht immer durch ihren analytischen Silbergehalt bedingt ist. Gleichzeitig ist damit der Beweis erbracht, daß in der chemischen Zusammensetzung eines Präparates auch bei der gleichen Herstellungs-

weise Abweichungen auftreten können, die in der verschiedenen Silberion-Konzentration zum Ausdruck kommen.

Tabelle XV. Silbersalvarsan. Bestimmung der Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung und in Rinderblutserum. Silbergehalt des Präparates: 13,70 Proz.

1	2	3	4	5	6
Gehalt an Silber- salvarsan (g in 100ccm)	Silbergehalt (mg-Atom in 1 Liter)	[Ag ⁺] (mg-Ion in 1 Liter) der Lösungen in			
		Wasser	Proz. des Silbergehaltes	NaCl-Lösung $v = 2 \cdot 11,96$ Liter	Serum
1	$1,3 \cdot 10^{-1}$	$4,1 \cdot 10^{-12}$	$3 \cdot 10^{-12}$	—	—
0,5	$6,4 \cdot 10^0$	$2,6 \cdot 10^{-12}$	$4 \cdot 10^{-11}$	$1,3 \cdot 10^{-11}$	$3,1 \cdot 10^{-10}$
0,25	$3,2 \cdot 10^0$	$6,6 \cdot 10^{-11}$	$2 \cdot 10^{-9}$	$4,9 \cdot 10^{-10}$	$1,6 \cdot 10^{-9}$
0,125	$1,6 \cdot 10^0$	$5,4 \cdot 10^{-10}$	$3 \cdot 10^{-8}$	$3,4 \cdot 10^{-9}$	$3,8 \cdot 10^{-9}$
0,063	$8,0 \cdot 10^{-1}$	$1,0 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$2,0 \cdot 10^{-9}$	$4,4 \cdot 10^{-9}$

2. *Silbersalvarsan* ist das Natriumsalz des Silber-dioxydiamido-arsenobenzols. Es ist in Wasser leicht zu einer klaren Flüssigkeit mit schwach alkalischer Reaktion löslich. Die wässrige Lösung ist nicht lange unzersetzt haltbar. Besonders bei den größeren Verdünnungen schieden sich nach einigen Stunden Flocken von gelblicher Farbe ab, die sich mitunter auch bei den stärkeren Konzentrationen während der Messung einstellten, wenn sich diese auf längere Zeit erstreckte, bis Konstanz des ϵ_c eingetreten war. Darauf sind wohl auch zum Teil die merkwürdigen Ergebnisse zurückzuführen, die bei der Bestimmung der Konzentration des Silberions erzielt wurden. Trotzdem die Messungen wahrscheinlich durch die auftretenden Zersetzungserscheinungen beeinflusst wurden, konnten doch bei Wiederholung der Versuche innerhalb der Fehlergrenzen die gleichen Werte erhalten werden. Die in Tabelle XV zusammengestellten Werte sind durch die Kurven in Abb. 10 veranschaulicht, deren Länge durch Überspringen der Potenzen -2 bis -6 gekürzt wurde. In der 0,063proz. Lösung sind $8,0 \cdot 10^{-1}$ mg-Atom Silber in 1 Liter

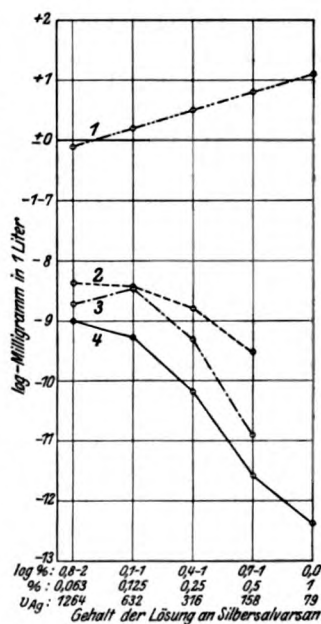


Abb. 10. *Silbersalvarsan.* Silberion-Konzentration der Lösungen in Wasser, in Natriumchloridlösung ($v = 2 \times 11,96$ Liter) und in Rinderblutserum. (Graphische Darstellung zu Tabelle XV.)
 1 ○ — — — — ○ Ag⁺-Gehalt der Silbersalvarsanlösung. (mg-At.).
 2 ○ — — — — ○ Silbersalvarsan in Serum (mg-Ion).
 3 ○ — — — — ○ Silbersalvarsan in NaCl-Lösungen (mg-Ion).
 4 ○ — — — — ○ Silbersalvarsan in wässriger Lösung (mg-Ion).

enthalten. Die Konzentration des Silberions beträgt nur $1,0 \cdot 10^{-9}$ mg-Ion in 1 Liter, also nur den $8 \cdot 10^8$ Teil. Mit steigendem Zusatz des Präparates nimmt der Gehalt an Silberion noch weiter ab. Die 0,125proz. Lösung enthält $1,6 \cdot 10^0$ mg-Atom Silber und $5,4 \cdot 10^{-10}$ mg-Ion in 1 Liter. Bei den folgenden Konzentrationen fällt die Kurve noch steiler ab bis $4,1 \cdot 10^{-13}$ mg-Ion in 1 Liter in der 1proz. Lösung, in der $1,3 \cdot 10^{-1}$ mg-Atom Ag enthalten sind. Demnach war bei dieser Konzentration nur der $3 \cdot 10^{-13}$ Teil etwa des Silbers in ionisiertem Zustande vorhanden.

III. Die Konzentration des Silberions von komplexen und kolloiden Silberpräparaten in natriumchlorid- und eiweißhaltigen Flüssigkeiten.

Bei der Feststellung der Desinfektionswirkung eines chemischen Stoffes spielt die Beschaffenheit des Mediums, in welchem das Desinfektionsmittel zur Anwendung kommt, eine große Rolle. In ihrer Arbeit „Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion“¹⁾ haben *B. Krönig* und *Th. Paul* nachgewiesen, daß in Bouillon, Gelatine, Körperflüssigkeiten usw. oder in wässrigen Lösungen, denen derartige Flüssigkeiten zugesetzt sind, die desinfizierende Wirkung der Metallsalze im allgemeinen geringer ist als in rein wässrigen Lösungen. Sie halten es für wahrscheinlich, daß diese Abnahme der Desinfektionswirkung auf einer Verminderung der Metallionen in der betreffenden Lösung beruht. Zu ähnlichen Schlüssen gelangt *La Franca*²⁾ bei seinen Versuchen über die Ionenkonzentration und Ionengiftigkeit in Systemen von Eiweißkörpern, Metallsalzen und Wasser. Durch die Eiweißkörper fand er die elektrolytische Dissoziation von Metallsalzen wie CuSO_4 , HgNO_3 , AgNO_3 stark zurückgedrängt, so daß in den eiweißhaltigen Lösungen dieser Salze die Konzentration der Metallionen außerordentlich gering ist.

Zur Feststellung ihrer Silberion-Konzentration in solchen Flüssigkeiten wurden die Silberpräparate in Lösungen von Blutserum untersucht. Da das Serum reichliche Mengen von Natriumchlorid (bis etwa 0,6 Proz.) enthält, wurden zunächst Versuche mit Lösungen der Präparate in reinen Natriumchloridlösungen angestellt, um auf diese Weise zu ermitteln, ob und inwieweit sich hierbei Unterschiede gegenüber den wässrigen Lösungen nachweisen lassen und welchen Einfluß der Gehalt der Körperflüssigkeit an Natriumchlorid bzw. an Eiweißstoffen auf die Ionenkonzentration in der Lösung ausübt. Im allgemeinen werden hier die Verhältnisse ähnlich liegen wie bei den entsprechenden Versuchen mit Silbernitrat. Die Bildung von Chlorsilber

¹⁾ Zeitschr. f. Hygiene 25, 112, 1897.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 481, 1906.

und von Silbereiweißverbindungen werden durch die gleichen Gesetzmäßigkeiten beherrscht. Hiervon abweichende Ergebnisse können nur in der Natur der Silberpräparate liegen.

1. Versuchsanordnung.

Die Schwerlöslichkeit der meisten Silberpräparate ließ es nicht angezeigt erscheinen, die Stoffe direkt in Serum bzw. Natriumchloridlösung aufzulösen, da sie sich in diesen Flüssigkeiten noch schwieriger verteilen lassen und möglicherweise Anlaß zu falschen Gleichgewichten geben können. Infolgedessen wurden zur Herstellung der Verdünnungen entsprechende Mengen wässriger Lösung verwendet und diesen Lösungen 50 Vol.-Proz. Serum bzw. Natriumchloridlösung entsprechender Konzentration zugemischt. Nach dem Auffüllen mit Wasser im Meßkölbchen wurden die gut durchgemischten Lösungen in Flaschen aus braunem Glase übergeführt und bis zur Vornahme der Messung mindestens eine halbe Stunde im Thermostaten bei $+18^{\circ}$ stehengelassen. Auf diese Weise waren für auftretende Ausfällungen von Silberniederschlägen stets die gleichen Bedingungen gegeben. Nach gutem Durchschütteln wurden die Reaktionsgemische schließlich in die Elektrodengefäße übergeführt.

Die Sera wurden nach dem üblichen Verfahren aus frischem Blut gewonnen. Das Blut blieb bis zum folgenden Tage im Eisschrank stehen, bis der größte Teil des Serums aus dem Blutkuchen ausgepreßt war. Das so gewonnene Serum war in den meisten Fällen klar und von goldgelber Farbe. Mitunter beigemengte Blutkörperchen wurden durch Zentrifugieren entfernt.

2. Versuchsergebnisse.

Aus den in den vorstehenden Abbildungen enthaltenen Kurven mit der Bezeichnung „Silberpräparat in NaCl-Lösung“ läßt sich erkennen, daß bei den meisten Präparaten in den stärksten Verdünnungen eine Silberion-Konzentration gefunden wurde, deren Logarithmus zwischen 0,5 — 6 und 0,5 — 5 liegt und somit auch mit den Silbernitratversuchen Übereinstimmung zeigt. Der Anstieg dieses Wertes bei stärkeren Lösungen ist offenbar darauf zurückzuführen, daß hier bereits alles Chlorion als AgCl ausgefällt ist und infolgedessen bei weiterer Erhöhung der Konzentration des Silberpräparates eine Vermehrung des Silberions erfolgt. Bei Argoflavin (Tabelle VIII) und Argoproton (Tabelle XIII) findet nur in den stärksten Verdünnungen ein geringer Anstieg der Werte statt, die dann bei den höheren Konzentrationen kaum eine Änderung mehr erfahren. Das gleiche gilt für Elektrokollargol (Tabelle XII, Abb. 8) und Kollargol (Tabelle XIV, Abb. 9), bei denen der Gehalt an Silberionen in der Natriumchloridlösung durch steigenden Zusatz der Präparate nur wenig zunimmt, so daß die Kurven fast geradlinig verlaufen.

In den Gemischen der Silberpräparate mit Serum zeigen die Werte der Konzentration des Silberions in den meisten Fällen einen deutlichen Parallelismus mit den in wässriger Natriumchloridlösung erhaltenen. Wenn mit zunehmendem Gehalt an Präparat das vorhandene Silber

vom Chlor nicht mehr vollkommen gebunden werden kann, so macht sich wie in den Gemischen mit reiner Natriumchloridlösung bei den Lösungen mit gleichem Prozentgehalt an Präparat auch in denen mit Serum ein Ansteigen der Konzentration des Silberions bemerkbar. Auch der Größe nach liegen die Werte des Silberionengehaltes für die beiden Gemische in den meisten Fällen ziemlich nahe beieinander, und zwar sind sie in den mit Serum versetzten Lösungen fast immer etwas kleiner als in den Natriumchloridlösungen. Eine Erklärung dafür dürfte nach den bei den entsprechenden Versuchen mit Silbernitrat erhaltenen Ergebnissen, die in den gleichen Silberkonzentrationen einen Silberionengehalt von derselben Größenordnung wie in den Präparaten zeigen, auch hier darin zu suchen sein, daß ein Teil des Silbers beim Mischen mit Serum von den darin vorhandenen Eiweißstoffen durch Adsorption oder unter Bildung von unlöslichen Silber-Eiweißverbindungen gebunden wird.

Das von den übrigen Präparaten abweichende Verhalten des Silbersalvarsans (Tabelle XV, Abb. 10) macht sich auch bei den Versuchen in Natriumchloridlösung und Serum bemerkbar. Die Silberion-Konzentration sinkt in den natriumchloridhaltigen Lösungen bis auf $2,0 \cdot 10^{-9}$ in der 0,063proz. Lösung, um nach kurzem Anstieg fast parallel der wässrigen Lösung steil abzufallen bis $1,3 \cdot 10^{-11}$ mg-Ion in 1 Liter der 0,5proz. Lösung. Im Serum zeigen dieselben Konzentrationen höhere Werte. Von $4,4 \cdot 10^{-9}$ in der 0,063proz. Lösung fällt der Gehalt an Silberion langsamer bis $3,1 \cdot 10^{-10}$ in der 0,5proz. Lösung. Besonders auffallend ist dabei, daß die Kurven der Silberion-Konzentrationen in Natriumchloridlösung und noch mehr die in Serum wesentlich höher liegen als die in Wasser.

Die Versuche mit Kollargol (Tabelle XIV, Abb. 9) zeigen, daß in Lösungen desselben Präparates mit verschiedenem Natriumchloridgehalt durch Vermehrung der Chlorionen eine weitere Zurückdrängung der Silberion-Konzentration hervorgerufen wird, denn die Kurve der stärkeren Natriumchloridlösung liegt noch etwas unter der mit geringerem Natriumchloridgehalt.

Die in den wässrigen Lösungen der beiden Präparate auftretende Verschiedenheit macht sich auch bei den Lösungen in Natriumchlorid, Serum und Blut bemerkbar. Bei den Natriumchloridlösungen liegt die Kurve von Kollargol II zunächst ebenfalls über der von Kollargol I. Sie schneidet aber die letztere bereits zwischen der 0,063- und 0,125proz. Lösung, um von da an bis zur 0,5proz. Lösung mit der von Kollargol I ziemlich parallel zu laufen. In den starken Konzentrationen fällt die Konzentration des Silberions bei Kollargol II jedoch bis $2,3 \cdot 10^{-6}$ mg-Ion in 1 Liter der 4proz. Lösung, während sie in Kollargol I in allen Verdünnungen den annähernd konstanten Wert von etwa $5 \cdot 10^{-6}$ behält.

Für die Versuche in Serum wurde Kollargol I mit Serum gemischt, das aus Menschenblut gewonnen war, während zu Kollargol II Rinderserum verwendet wurde. Mit Ausnahme der 4proz. Lösung verlaufen die Kurven beider Präparate annähernd parallel; die für Kollargol II liegt jedoch durchweg viel tiefer als die für Kollargol I, obgleich die Lage der Kurven für die den Seren entsprechenden Natriumchloridlösungen für die Mischungen in Rinderserum höhere Werte erwarten läßt. Während bei Kollargol I die Konzentrationen des Silberions der Natriumchloridlösungen und der Serumgemische auch in den verdünnten Lösungen nur geringe Unterschiede aufweisen, werden diese in den entsprechenden Lösungen von Kollargol II viel beträchtlicher, so daß hier die beiden Kurven in bedeutendem Abstand verlaufen, der sich mit zunehmendem Gehalt der Lösungen an Präparat immer mehr verringert. Die stärkere Abnahme der Silberion-Konzentration in den verdünnten Serumlösungen, die sich besonders deutlich bei Kollargol II — in gleicher Weise auch bei Elektrokollargol — zeigt, wo noch verdünntere Lösungen gemessen wurden, ist wohl auf den Einfluß der im Serum vorhandenen Eiweißstoffe zurückzuführen, die, wie oben dargetan wurde, einen Teil der Silberionen zu binden vermögen und dadurch deren Konzentration vermindern. Und zwar kommt dieses Bindungsvermögen des Eiweißes um so deutlicher zum Vorschein, je geringer der Gehalt an Silber in der Lösung ist.

Dies geht auch aus den Versuchen mit Protargol in Eiweißlösungen hervor, deren Ergebnisse in Tabelle IX und Abb. 6 aufgezeichnet sind. Die zu diesen Messungen verwendeten Gemische wurden in gleicher Weise wie bei den entsprechenden Versuchen mit Silbernitrat bereitet und enthielten 50 Vol.-Proz. 10proz. Hühnereiweißlösung. In der 0,063proz. Lösung ist die Konzentration des Silberions, die im Serum den Wert von $4,5 \cdot 10^{-6}$ mg-Ion in 1 Liter besitzt, auf $2,6 \cdot 10^{-7}$ mg-Ion in 1 Liter gefallen. Durch weiteren Zusatz von Protargol steigt sie bis $2,7 \cdot 10^{-4}$ in der 4proz. Lösung.

Einen weiteren Unterschied zwischen den beiden Kollargolpräparaten ergaben die Messungen ihrer Silberion-Konzentrationen in defibriniertem Blut, deren Ergebnisse in den Spalten 11 und 12 der Tabelle XIV zusammengestellt und ebenfalls auf Abb. 9 aufgetragen sind. In ihrem Verlauf zeigen die beiden Kurven der Präparate in Blut eine auffallende Ähnlichkeit mit denen in Wasser, da Kollargol I in den verdünnten Lösungen eine niedrigere, in den konzentrierten eine höhere Silberion-Konzentration hat als Kollargol II, so daß die Kurve des letzteren Präparates im Schnittpunkte der 1proz. Lösung in gleichem Sinne wie dort nach rechts gedreht erscheint. Jedoch nimmt in Blut die Konzentration des Silberions im Gegensatz zu der in Wasser mit steigender Verdünnung ab, und zwar so regelmäßig,

daß der lineare Verlauf der beiden Kurven fast vollkommen parallel der des Gesamtsilbergehaltes der Lösungen geht. Dies tritt besonders bei Kollargol II in Erscheinung. Für dieses Präparat beträgt die Silberion-Konzentration in der 0,125proz. Lösung in Blut etwa den 1000millionsten Teil des Gesamtsilbergehaltes, und dieser Wert bleibt auch bei den stärkeren Konzentrationen annähernd konstant bis zur 4proz. Lösung, wo etwa der 710millionste Teil des Silbers in Ionen zerfallen ist. Von Kollargol I verläuft die Kurve steiler, so daß in den gleichen Konzentrationen der Gehalt an Silberion vom etwa 3400millionsten auf den annähernd 300millionsten Teil des Gesamtsilbers ansteigt. Vergleicht man die in Blut erhaltenen Werte mit denen in Serum, so ergibt sich für Kollargol I in Blut eine Verminderung der Silberionen in der 0,125proz. Lösung auf etwa den 600. Teil und in der 4proz. Lösung auf etwa den dritten Teil der Silberion-Konzentration im Serum. Bei Kollargol II sind in den entsprechenden Konzentrationen im Serum etwa 80- bzw. 6mal soviel Silberionen als im Blut vorhanden.

Demnach weisen die beiden Kollargolpräparate, obwohl sie fast genau denselben Gesamtsilbergehalt besitzen, in ihren Lösungen in Natriumchlorid, Serum und Blut bemerkenswerte Unterschiede auf, die durch den verschiedenen Silberionengehalt der entsprechenden Lösungen zum Ausdruck kommen. Die bei der Besprechung der Protargolpräparate dargelegten Ausführungen finden hierdurch eine weitere Bestätigung. Aus den Versuchen mit den beiden Kollargolpräparaten läßt sich ferner feststellen, daß die Silberpräparate in Blut ein anderes Verhalten zeigen als in Serum. Durch die im Blutkuchen sich abscheidenden Blutbestandteile werden Silberionen gebunden und dadurch deren Konzentration, zumal in Lösungen mit geringem Silbergehalt, erheblich vermindert. Da die Silberpräparate bei ihrer praktischen Verwendung vielfach in Form von Einspritzungen mit den Körperflüssigkeiten direkt in Berührung kommen, so ist diese Feststellung für die Silbertherapie von wesentlicher Bedeutung. In den geringen Silberkonzentrationen, die aus den eingespritzten Silberlösungen bei der Durchmischung mit dem Gesamtkörperblut entstehen, wird nur ein sehr geringer Teil des Silbers als Ion vorhanden sein und in dieser Form seine desinfizierende Wirkung auf die Bakterien im Körper ausüben. Darauf sind vielleicht auch zum Teil die sich oft widersprechenden Ansichten über den Wert der Silberpräparate für die Heilkunde zurückzuführen, zumal über die Wirkungsweise dieser Arzneistoffe im Körper zuverlässige Kenntnisse nicht bestehen. Zur Klärung dieser Verhältnisse sollen die Versuche beitragen, die im folgenden Abschnitt beschrieben sind.

IV. Die Konzentration des Silberions im lebenden Blute.

Spritzt man die Lösung eines kolloidalen Silberpräparates — in dieser Form kam das Silber bei den unten beschriebenen Versuchen meist zur Anwendung — in die Blutbahn ein, so findet durch das Strömen des Blutes rasch eine Vermischung statt. Wie oben experimentell mit Hilfe des Elektrometers zahlenmäßig nachgewiesen wurde, tritt infolge der Wechselwirkung mit dem im Blute vorhandenen Natriumchlorid und noch mehr mit dem Serum und den anderen Blutbestandteilen eine wesentliche Verminderung der Silberionen gegenüber der ursprünglichen Lösung ein. Gleichzeitig findet, wie *J. Voigt*¹⁾ nachgewiesen hat, eine Ablagerung von Silber bzw. Silberverbindungen in den Blutgefäßen und den Geweben der Organe (Leber, Milz, Knochenmark usw.) statt. Dadurch kann eine weitere Verminderung des Silberions eintreten. Da es für die Beurteilung der therapeutischen Wirkung der Silberpräparate von großem Interesse ist, die verbleibende Konzentration des Silberions zu kennen, so wurde versucht, sie experimentell zu ermitteln.

1. Versuchsanordnung.

Die Versuche wurden an septisch erkrankten Personen ausgeführt, denen in der Klinik zur Heilung Silberpräparate verabreicht werden sollten. Als solche kamen zur Anwendung Elektrokollargol (Silbergehalt 0,06 Proz.) und die oben aufgeführten Kollargolpräparate, von denen 1 Stunde vor der Injektion 4- oder 5proz. Lösungen in sterilen Gefäßen mit sterilem Wasser hergestellt wurden. Die Lösungen blieben dann bis zur Verwendung ruhig stehen, um den etwa vorhandenen größeren Teilchen Zeit zum Absitzen zu lassen. In der Injektionsflüssigkeit wurde sowohl die Silberion-Konzentration als auch der Gesamtsilbergehalt bestimmt. Die Einspritzungen wurden in die Vena cubitalis des Armes vorgenommen, und nach Ablauf bestimmter Zeiten aus der Vene des anderen Armes Blut zur Untersuchung auf Silberionen und Gesamtsilber entnommen. Gleichzeitig wurden auch Versuche an Tieren (Kaninchen und Meerschweinchen) angestellt und hierzu Lösungen des oben beschriebenen Argochroms und der gleichen Kollargolpräparate wie bei den Versuchen an Menschen benutzt. Dabei wurde die Injektion der Silberlösung und die Blutentnahme in derselben Körpergegend, z. B. am Kopf der narkotisierten Tiere vorgenommen. Meist wurde in die freigelegte Arterie injiziert und aus der freigelegten Vene derselben Gegend das Blut entnommen. Dieses wurde etwa 24 Stunden im Eisschrank stehengelassen und dann das ausgepreßte Serum vom Blutkuchen getrennt.

Zur quantitativen Bestimmung des Silbers wurde die organische Substanz nach der auch von *J. Voigt*²⁾ benutzten Methode durch Veraschen unter Zusatz geringer Mengen Ammoniumnitrat zerstört. Aus dem Rückstand wurde das durch die Kohle reduzierte Silber durch Erwärmen mit verdünnter Salpetersäure und darauf das Silberchlorid durch Ammoniak herausgelöst und die mit verdünnter Salpetersäure angesäuerte Lösung

¹⁾ Diese Zeitschr. 68, 477, 1915.

²⁾ Ebendasselbst 63, 410, 1914.

nach *Volhard* mit 0,01 n.-Rhodanammonlösung titriert. Mit abgemessenen Mengen Silbernitrat angestellte Kontrollversuche in Serum hatten folgendes Ergebnis:

Versuch	Serum ccm	0,01 n.-AgNO ₃ ccm	Ag	
			berechnet mg	gefunden mg
I	5	1,0	1,08	1,43
II	5	5,0	5,40	5,21
III	5	10,0	10,79	10,40

Da bei diesem Verfahren leicht Verluste durch Verspritzen oder durch Verflüchtigung von Silberchlorid bei höheren Temperaturen eintreten können, wurde bei der Mehrzahl der Versuche die feuchte Veraschung nach *A. Neumann*¹⁾ durchgeführt, nach der die organische Substanz mit Salpeterschwefelsäure verbrannt wird. Die mitunter recht beträchtlichen Mengen von Serum und insbesondere von Blutkuchen machten es erforderlich, daß größere Mengen — bis 50 ccm — des Säuregemisches zugegeben werden mußten, um überhaupt die vollkommene Zerstörung der organischen Substanz zu erreichen. Um Störungen in der Titration des Silbers durch diese großen Mengen Schwefelsäure zu vermeiden, wurde letztere abgeraucht und der Rückstand mit verdünnter Salpetersäure und Ammoniak zur Lösung gebracht. Schließlich wurde nach dem Vorgange von *G. Rebière*²⁾ im blinden Versuche gegen 0,01 n.-Silbernitratlösung eingestellte überschüssige 0,01 n.-Kaliumcyanidlösung zugegeben und deren Überschuß nach Zugabe einiger Tropfen 5proz. Kaliumjodidlösung mit 0,01 n.-Silbernitratlösung zurücktitriert. Als Endpunkt der Titration wurde das Auftreten einer bläulichen, ins gelbliche schimmernden Opaleszenz angenommen, die besonders in durchfallendem Lichte deutlich zu erkennen war. Zur Nachprüfung des Verfahrens wurden Gemische von Kollargollösungen bekannten Gehaltes und Blut in der gleichen Weise behandelt und dabei folgende Ergebnisse erhalten:

Versuch	Blut ccm	Kollargollösung 0,25proz. ccm	Ag	
			berechnet mg	gefunden mg
I	25	5,0	9,25	9,48
II	25	8,0	14,81	14,73

Die Brauchbarkeit der Methode war dadurch bewiesen.

2. Versuchsergebnisse.

a) Versuche mit Elektrokollargol.

In der oben beschriebenen Weise wurden den Versuchspersonen je 5,0 ccm Elektrokollargol (Silbergehalt 0,06 Proz.) in die Armvene eingespritzt und nach Verlauf einer bestimmten Zeit, die bei den ein-

¹⁾ *E. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden.* Berlin und Wien, Urban und Schwarzenberg, 1910, 1, 385.

²⁾ *Bull. Soc. Chim. de France* 17, 306, 1915.

zelen Versuchen wechselte, aus der Vene des anderen Armes das Blut entnommen. Die bei der Bestimmung des Gehaltes an Gesamtsilber und an Silberion erhaltenen Werte sind in Tabelle XVI eingetragen. Mit Ausnahme des letzten dieser Versuche war die quantitative Bestimmung des Gesamtsilbers nur im Serum ausgeführt worden, da es sich zunächst nur darum handelte, einen Vergleich dieser Werte mit den auf elektrometrischem Wege erhaltenen anstellen zu können. Bei einer Versuchsdauer von 10 Minuten, während der das Silber mit dem Blute gemischt im Körper kreiste, waren in den nach dieser Zeit entnommenen 40 ccm Blut im ersten Versuche kein Silber nachweisbar. Bei einer anderen Versuchsperson wurden 15 ccm Blut nach 30 Minuten entnommen und darin 0,13 mg Silber gefunden. Bei einer weiteren Versuchsperson wurde 55 Minuten bis zur Blutentnahme gewartet und in 50 ccm Blut 0,24 mg Silber gefunden. In einem anderen Falle war nach 60 Minuten im Serum kein Silber mehr nachweisbar. Die Silberion-Konzentration betrug im ersten Falle $7,9 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion auf 1 Liter Blutserum berechnet. In den anderen Fällen schwankte sie innerhalb enger Grenzen von 2,3 bis $3,2 \cdot 10^{-8}$.

b) Tierversuche mit Argochrom und Kollargol (Tabelle XVII).

Erster Tierversuch. Ein Kaninchen von 1870 g Gewicht erhielt 2,0 ccm 1proz. Argochromlösung in die Carotis eingespritzt. Nach 4 Minuten wurde aus der Jugularis 12 ccm Blut entnommen, wobei 4 weitere Minuten verstrichen. In dem aus dem Blut nach der Injektion gewonnenen Serum war titrimetrisch kein Silber nachzuweisen. Bei der elektrometrischen Bestimmung ergab sich eine Silberion-Konzentration von $9,1 \cdot 10^{-9}$ mg-Ion in 1 Liter.

Zweiter Tierversuch. Dem zweiten Kaninchen mit einem Gewicht von 1540 g wurde 1,0 ccm einer 4proz. Argochromlösung in die Ohrvene eingespritzt und nach 15 Minuten 15 ccm Blut aus der Jugularis derselben Seite entnommen. Von den in der Silberlösung enthaltenen 8,8 mg Silber wurden in den aus dem Blute gewonnenen Serum 0,43 mg wiedergefunden. Während sonach in 1 Liter Serum $5,4 \cdot 10^1$ mg Silber vorhanden waren, ergab sich eine Silberion-Konzentration von nur $2,6 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion in 1 Liter.

Dritter Tierversuch. Das dritte Versuchstier war ein 460 g schweres Meerschweinchen, dem 2,0 ccm einer 4proz. Kollargollösung in die Carotis eingespritzt wurde. Während der nach 2 Minuten begonnenen Blutentnahme ging das Tier ein. Durch sofortiges Öffnen der Brusthöhle konnten daraus sowie aus Lunge, Herz und großen Gefäßen 3 ccm Blut aufgefangen werden, in denen 2,85 mg Silber gefunden wurden. In 1 Liter Blut waren demnach $9,5 \cdot 10^2$ mg Silber vorhanden, während die Konzentration des Silberions $4,9 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion in 1 Liter betrug.

Tabelle XVI.

Konzentration des Silberions in Serum aus Blut mit Elektrokollargol (0,06proz. Ag) injizierter Versuchspersonen.

Versuch	Silbergehalt des entnommenen Blutes											
	Entnommenes Blut			Gesamtsilber (titrimetrisch) (mg)								
	Zeit bis zur Blutentnahme			berechnet auf 1 Liter Serum								
	Menge des eingespritzten Elektrokollargols	Menge		Silberion (elektrometrisch) in 1 Liter Serum (mg-lon Ag)								
	ccm	Silbergehalt (mg)	(Minuten)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)	Silbermenge (ccm)
1	5	3	10	40	8	32	0,00	—	—	0,00	7,9 · 10 ⁻⁸	—
2	5	3	10	40	18	22	0,19	—	—	1,1 · 10 ¹	2,3 · 10 ⁻⁸	—
3	5	3	30	15	5,5	9,5	0,13	—	—	2,4 · 10 ¹	3,2 · 10 ⁻⁸	—
4	5	3	55	50	28	22	0,24	—	—	8,7 · 10 ⁰	3,2 · 10 ⁻⁸	—
5	5	3	60	40	25	15	0,00	—	—	0,00	2,8 · 10 ⁻⁸	—

Tabelle XVII.

Konzentration des Silberions in Blut und in Serum aus Blut mit Argochrom und Kollargol injizierter Tiere.

Versuch	Silbergehalt des entnommenen Blutes																
	Entnommenes Blut			Gesamtsilber (titrimetrisch) (mg)													
	Zeit bis zur Blutentnahme			berechnet auf 1 Liter													
	Name des Präparates	Konzentration	Menge	Gehalt an Silber	Zeit bis zur Blutentnahme	Menge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge	Silbermenge
		Proz.	(ccm)	(mg)	(Min.)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)	(ccm)
1	Kaninchen 1870 g.	1	2,0	4,4	4	12	9	3	0,00	—	—	0,00	—	—	9,1 · 10 ⁻⁹	—	—
2	Kaninchen 1680 g.	4	1,0	8,8	15	15	8	7	0,43	—	—	5,4 · 10 ¹	—	—	2,6 · 10 ⁻⁸	—	—
3	Meerschweinchen	4	2,0	59,2	2	3	—	—	—	—	—	2,85	—	—	9,5 · 10 ²	—	4,9 · 10 ⁻⁹
4	Meerschweinchen 660 g.	4	6,0	177,6	2	25	—	—	—	—	—	0,32	—	—	1,3 · 10 ²	—	2,4 · 10 ⁻⁸
5	Kaninchen 1890 g.	4	4,0	118,3	7	25	16	9	0,00	5,66	0,00	5,66	0,00	0,00	2,3 · 10 ²	3,0 · 10 ⁻⁸	—

Vierter Tierversuch. Ein zweites Meerschweinchen mit 660 g Gewicht hatte 6,0 ccm der 4proz. Kollargollösung in die Jugularis bekommen, worauf nach 2 Minuten der Tod eintrat. In den aus Hals, Herz und großen Gefäßen entnommenen 2,5 ccm Blut wurden 0,32 mg Silber bestimmt, so daß in 1 Liter 6,5 mg enthalten waren. Die elektrometrische Bestimmung ergab eine Silberion-Konzentration von $2,4 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion in 1 Liter.

Da im Vergleich zum vorhergehenden Versuche, bei welchem nur der dritte Teil Silber eingespritzt worden war, das Blut auffallend wenig davon enthielt, der größte Teil also im Körper zurückgeblieben war, erschien es angezeigt, auch die Organe des Tieres auf ihren Silbergehalt hin zu untersuchen. Dabei wurden gefunden:

in Leber	4,15 mg Ag
in Lunge	0,38 „ „
in Niere + Herz	0,62 „ „
	5,15 mg Ag

Von den eingespritzten 177,6 mg Silber war also der bei weitem größte Teil von dem noch im Körper gebliebenen Blute bzw. in den anderen Organen zurückgehalten.

Fünfter Tierversuch. Hierzu wurde wieder ein Kaninchen herangezogen, das 1890 g wog. Um festzustellen, welchen Wert das Blutserum desselben Tieres vor der Injektion ohne Silberzusatz bei der elektrometrischen Bestimmung ergibt, wurden dem Tiere zunächst 5 ccm Blut aus der Carotis entnommen und hierauf durch die Jugularis 4,0 ccm 4proz. Kollargollösung zugeführt. Nach 7 Minuten wurde das Tier durch die Carotis ausbluten gelassen und so im Verlaufe von 3 Minuten eine weitere Menge von 25 ccm Blut gewonnen, die 16 ccm Serum und 9 ccm Kuchen ergaben. Während im Serum titrimetrisch kein Silber nachgewiesen werden konnte, wurden im Blutkuchen 5,66 mg gefunden, so daß im Blute eine Silberkonzentration von 230 mg in 1 Liter vorhanden war. Wie beim vorhergehenden Versuche wurden auch hier nach der Obduktion die für die Silberablagerung am ersten in Betracht kommenden Organe analytisch untersucht. Die Bestimmung in der Leber konnte infolge Zerspringens des Kjeldahlkolbens nicht zu Ende geführt werden. Von den übrigen Organen wurden gefunden:

in der Lunge	3,13 mg Ag
im Hirn	0,00 „ „
in der Niere	2,16 „ „
	5,29 mg Ag

Die elektrometrische Bestimmung ergab im Serum des vor der Injektion entnommenen Blutes eine elektromotorische Kraft, die einer Silberion-Konzentration von $1,1 \cdot 10^{-8}$ entspricht; nach der Injektion war das Potential etwas höher gestiegen und entsprach einer Silber-

ion-Konzentration von $3,0 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion in 1 Liter. Diese Zunahme ist wahrscheinlich durch die Spuren von Silber veranlaßt, die analytisch nicht mehr zu erfassen waren. Diese Befunde werden verständlich, wenn man die oben über das Potential in silberfreien Lösungen gemachten Ausführungen berücksichtigt. Besonders deutlich wird dies bei den Versuchen 2 und 3, bei denen größere Silbergaben zwar eine beträchtliche Erhöhung der Silberkonzentration im Blute, aber keine Erhöhung des Gehaltes an Silberion ergaben. Das Entstehen der geringen elektromotorischen Kraft wird man auch hier wieder darauf zurückführen müssen, daß infolge der elektrolytischen Lösungstension des Silbermetalles minimale Mengen Silber von der Oberfläche der versilberten Elektrode in Lösung gehen und so in ihrer unmittelbaren Nähe eine geringe, durch die in den Versuchslösungen vorhandenen Silberionen vielleicht noch etwas erhöhte Silberion-Konzentration hervorrufen.

c) Versuche an Menschen mit Kollargol.

Da bei den Tierversuchen mit hoher Silbergabe das Silber nur sehr kurze Zeit im Blute kreiste, wurde dazu übergegangen, Kranken auch größere Mengen Silber zu verabreichen, um festzustellen, ob vielleicht durch Verlängerung der Versuchsdauer eine Vermehrung der Silberionen gegenüber den Tierversuchen oder durch Erhöhung der Silbergabe eine Änderung gegenüber den Elektrokollargolversuchen (Tabelle XVI) erreicht werden kann. Zu den Einspritzungen wurden 4- oder 5proz. Lösungen von Kollargol benutzt, die wie oben angegeben hergestellt waren, und hiervon 3,5 bis 5,0 ccm injiziert. Die Zeit bis zur Blutentnahme wurde bis auf 90 Minuten ausgedehnt, wozu noch die Zeit der Entnahme selbst kam, die 15 bis 20 Minuten erforderte. Soweit es der Zustand der Kranken erlaubte, wurden möglichst große Mengen — bis 230 ccm — Blut entnommen, um für die titrimetrische Bestimmung größere Mengen Silber zu erhalten.

Die in Tabelle XVIII zusammengestellten Ergebnisse zeigen, daß auch bei längerem Verbleiben des Silbers im Körper die Konzentration des Silberions die Größenordnung 10^{-8} nicht übersteigt, selbst wenn beträchtliche Mengen Silber dem Blute zugeführt waren. Auch unter sich zeigen die Werte der einzelnen Versuche keine wesentlichen Unterschiede. Die im silberfreien Serum auftretende elektromotorische Kraft ist dieselbe wie bei den früheren Versuchen und entspricht einer Silberion-Konzentration von etwa $1 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion in 1 Liter. In Übereinstimmung mit den Elektrokollargolversuchen ist der Gehalt an Silber im entnommenen Blute am größten bei der Entnahme nach 30 Minuten und fällt dann bei der Entnahme nach 60 Minuten so weit, daß er bei gleich großen Gaben (Versuche 2 und 3) fast nur mehr den

Tabelle XIX.

Konzentration des Silberions in frischem Blut nach Zusatz von Kollargol und in dem daraus gewonnenen Serum.

1	2	3		4		5	6	7	8	9	10	11	12
Versuch	Mischungsverhältnis der Kollargollösung mit Blut	Die Mischung enthält		Menge des gewonnenen		Kuchens (ccm)	Silbergehalt der Mischungen			Silberion (elektrometrisch) (mg.-ion Ag) in 1 Liter			
		Kollar- gol (mg)	Ag (mg)	Serums (ccm)	Gesamtsilber (titrimetrisch) (mg)		berechnet auf 1 Liter		Blut	Serum			
					im gewonnenen Blut		Gesamtblut	Kuchen			Serum	Blut	Serum
1	6,50 ccm Kollargollösung (2 proz.) mit Blut zu 40 ccm gemischt (v = 45 Liter)	130,0	96,0	6,7	33,3		6,7	91,2	97,9	2,5 · 10 ³	1,0 · 10 ³	3,5 · 10 ⁻⁸	1,5 · 10 ⁻⁸
2	1,30 ccm Kollargollösung (2 proz.) mit Blut zu 51 ccm gemischt (v = 286 Liter)	26,0	18,0	25,5	25,5		6,7	8,1	14,8	2,9 · 10 ²	2,5 · 10 ²	2,8 · 10 ⁻⁸	2,7 · 10 ⁻⁸
3	0,18 ccm Kollargollösung (2 proz.) mit Blut zu 13 ccm gemischt (v = 510 Liter)	3,6	2,7	6,0	7,0		1,2	1,4	2,6	2,0 · 10 ²	2,1 · 10 ²	— ¹⁾	7,1 · 10 ⁻⁹
4	0,18 ccm Kollargollösung (2 proz.) mit Blut zu 23 ccm gemischt (v = 931 Liter)	3,6	2,7	7,0	16,0		1,1	0,3	1,4	5,9 · 10 ¹	1,5 · 10 ²	— ¹⁾	7,8 · 10 ⁻⁹
5	0,125 ccm Kollargollösung (2 proz.) mit Blut zu 23 ccm gemischt (v = 1341 Liter)	2,5	1,9	11,0	12,0		0,7	1,0	1,7	7,4 · 10 ¹	8,3 · 10 ¹	1,7 · 10 ⁻⁸	6,6 · 10 ⁻⁹

1) Konnte nicht gemessen werden, da Blut sofort gerann.

die folgenden Versuche ausgeführt, bei denen abgemessene Mengen einer 2 Proz. Kollargollösung mit frisch entnommenem Menschenblut gut gemischt und in dieser Mischung sofort die Silberionen bestimmt wurden. Hierauf blieb das Gemisch 24 Stunden stehen, bis sich das Serum klar vom Blutkuchen getrennt hatte. In beiden wurde der Silbergehalt titrimetrisch bestimmt, im Serum außerdem noch die Konzentration des Silberions elektrometrisch gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle XIX eingetragen.

Bei Versuch 3 und 4 kam das Blut schon während des Mischens zur Gerinnung, so daß die elektrometrische Bestimmung nicht ausgeführt werden konnte. Die übrigen Lösungen zeigten annähernd den gleichen Gehalt an Silberion, der in der 45 litrigen Lösung des ersten Versuches den Wert von $3,5 \cdot 10^{-8}$ ergab und bei den stärkeren Verdünnungen nur wenig abnahm, bis $1,7 \cdot 10^{-8}$ in der 1341 litrigen Lösung des Versuches 5. Im Serum wurde stets ein

etwas niedrigere Silberion-Konzentration als im Blute gefunden, die bei den schwächeren Lösungen noch etwas abnahm, so daß die 1341 litrige Lösung des Versuches 5 nur mehr $6,6 \cdot 10^{-9}$ mg-Ion in 1 Liter enthielt. Demnach wurde das Silber außerordentlich schnell und nahezu vollkommen vom Blute mit Beschlag belegt, und zwar anscheinend hauptsächlich durch die im Blutkuchen sich abscheidenden Bestandteile. Dies ging ja auch aus den oben angeführten Versuchen mit Kollargol in Serum und Blut hervor, bei denen im Serum eine größere Silberion-Konzentration als im Blute gefunden wurde. Vergleicht man die dort erhaltenen Ergebnisse mit denen in diesen Versuchen, so ergibt sich, daß die 451 litrige Lösung desselben Präparates II dort im Blute mit etwa $2,4 \cdot 10^{-8}$ annähernd den gleichen Silberiongehalt wie im frischen Blute hat. Im Serum hingegen ist dieser hier auf $1,5 \cdot 10^{-8}$ gesunken, obwohl analytisch $1,3 \cdot 10^{-3}$ mg in 1 Liter gefunden wurden, eine Konzentration, der bei den dortigen Versuchen etwa die 0,125proz. Lösung entspricht. Diese aber hatte einen Silberiongehalt von $7,0 \cdot 10^{-7}$ in Rinderserum und $1,5 \cdot 10^{-6}$ in Menschenserum. Daraus kann man schließen, daß das frische Blut Stoffe enthält, die einen besonderen Einfluß auf das Gleichgewicht der Silberionen ausüben. Dieser Einfluß wird sich naturgemäß auch beim Einführen des Silbers in die Blutbahn geltend machen, hier vielleicht in noch gesteigertem Maße, da es dann im lebenden Körper kreist und immer von neuem wieder mit frischem Blute in Berührung kommt. Daß hierbei die Bestandteile des Blutkuchens eine wesentliche Rolle spielen, geht auch aus den analytischen Bestimmungen des Silbergehaltes in Serum und Kuchen hervor, nach denen bei der Trennung des Serums Silber vom Kuchen zurückgehalten wird. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß diese Trennung nicht quantitativ erfolgt, und deshalb im Kuchen stets ein mehr oder weniger großer Teil des Serums zurückbleibt, und ferner, daß nicht in allen Fällen die Verteilung des Silbers auf Serum und Kuchen in gleichem Sinne gefunden wurde.

V. Zusammenfassung.

1. Die Bestimmung der Silberionen erfolgte bei den vorliegenden Untersuchungen mit Hilfe einer galvanischen Konzentrationskette, bei der eine Silberelektrode in die zu prüfende silberhaltige Flüssigkeit taucht, welche letztere durch indifferente Zwischenflüssigkeiten mit einer Kalomel-Normalelektrode verbunden ist. Aus dem beobachteten Potential wurde nach der *Nernstschen* Formel die Silberion-Konzentration berechnet. Auf diese Weise läßt sich die Konzentration des Silberions in Flüssigkeiten, die Serum und Blut enthalten, bis zur Verdünnung von etwa $1 \cdot 10^{-8}$ mg-Ion Ag' in 1 Liter bestimmen.

2. Mit Rücksicht auf die praktische Verwendung der Silberpräparate in der Heilkunde, wobei sie fast stets mit Natriumchlorid- und eiweißhaltigen Flüssigkeiten, z. B. dem Blute in Berührung kommen, wurde die Konzentration des Silberions in Gemischen von Silbernitratlösungen mit Lösungen von Natriumchlorid und Eiweiß sowie Blutserum bestimmt. Die elektrometrischen Messungen führten zu folgenden Ergebnissen.

3. Durch überschüssiges Natriumchlorid wird die dem Löslichkeitsprodukt des Chlorsilbers ($1,0 \cdot 10^{-4}$) entsprechende Silberion-Konzentration in rein wässriger Lösung von Silberchlorid ($1,0 \cdot 10^{-2}$ mg-Ion in 1 Liter) stark vermindert. Die durch Messung erhaltenen Werte stimmen innerhalb der Versuchsfehler mit den berechneten befriedigend überein.

4. Da ein großer Teil der Silberpräparate das Metall in komplexer Form gebunden enthält, wurde die Silberion-Konzentration in Lösungen komplexer Silberverbindungen bei Gegenwart von Eiweiß (Hühnereiweiß) bestimmt. Diese Lösungen wurden hergestellt durch Hinzufügen von Eiweiß zu wässrigen Silbernitratlösungen und Auflösen des entstandenen Niederschlages durch Zusatz von Ammoniak, Kaliumcyanid und Natriumthiosulfat. Die dabei beobachteten Erscheinungen stehen im Einklang mit der Theorie der komplexen Verbindungen.

5. Überschüssiges Hühnereiweiß allein bewirkt in wässrigen Lösungen von Silbernitrat eine stärkere Verminderung der Silberionen als überschüssiges Natriumchlorid. Wird das Hühnereiweiß durch Dialyse von dem normalerweise darin enthaltenen Natriumchlorid befreit, so nimmt der Gehalt an Silberion in der Lösung etwas zu, erreicht aber nicht den Wert der gleich konzentrierten Silberlösungen in überschüssigem Natriumchlorid.

6. In Gemischen von Silbernitratlösungen mit überschüssigem Blutserum ist die Silberion-Konzentration noch geringer als in den Lösungen, die Hühnereiweiß enthalten.

7. Es wurden die Angaben von *Th. Paul* bestätigt, wonach die medizinischen Silberpräparate nach ihrem Verhalten in wässriger Lösung in drei Gruppen eingeteilt werden können: Silberpräparate, deren Silberion-Konzentration mit zunehmender Verdünnung

- a) abnimmt (Argoplex, Argochrom, Argoflavin, Protargol);
- b) annähernd konstant bleibt (Choleval, Elektrokollargol, Argo proton);
- c) zunimmt (Kollargol, Silbersalvarsan).

Die weitere Untersuchung der vorstehend aufgeführten Silberpräparate führte zu folgenden Ergebnissen.

8. Argoplex, Argochrom und Argoflavin sind in wässriger Lösung ähnlich den normalen Silbersalzen weitgehend dissoziiert. Bei dem weniger stark dissoziierten Protargol sinkt der Gehalt an Silberion bei der Verdünnung von 4 bis 0,063 Proz. ungefähr von $4 \cdot 10^0$ bis $3 \cdot 10^{-1}$ mg-Ion Ag^+ in 1 Liter.

9. Bei Choleval bewegt sich die Silberion-Konzentration in den 0,125- bis 4proz. Lösungen um etwa $1 \cdot 10^{-1}$, während sie sich bei Elektrokollargol in der unverdünnten bis zu der 3,13 ccm in 100 ccm enthaltenden Lösung auf ungefähr $2 \cdot 10^{-3}$ mg-Ion Ag^+ in 1 Liter hält. Bei Argoproton beträgt die Silberion-Konzentration von der 0,031- bis zur 4proz. Lösung etwa $2 \cdot 10^{-1}$ mg-Ion Ag^+ in 1 Liter.

10. In den beiden untersuchten Präparaten von Kollargol steigt die Silberion-Konzentration von etwa $6 \cdot 10^{-5}$ (Präparat I) bzw. $4 \cdot 10^{-5}$ (Präparat II) in der 4proz. Lösung auf etwa $2 \cdot 10^{-3}$ (Präparat I) bzw. $4 \cdot 10^{-3}$ (Präparat II) mg-Ion Ag^+ in der 0,063proz. Lösung. Es zeigt damit Übereinstimmung mit den von *Th. Paul* nach derselben Methode untersuchten Silber-Ammoniakverbindungen und den sich analog verhaltenden Präparaten Argentamin und Lysargin. Beim Silbersalvarsan steigt die Silberion-Konzentration von etwa $4 \cdot 10^{-13}$ (1proz. Lösung) beim Verdünnen auf etwa $1 \cdot 10^{-9}$ mg-Ion Ag (0,063proz. Lösung).

11. Aus der Konzentration der Silberionen der medizinischen Silberpräparate in wässriger Lösung bei steigender Verdünnung kann man weitgehende Schlüsse auf die chemische Konstitution dieser Stoffe ziehen und innerhalb gewisser Grenzen feststellen, ob einfache oder komplexe Salze, ob Kolloide oder Gemische der drei Formen vorliegen.

12. Die Bestimmung der Silberion-Konzentration ist ein Hilfsmittel zur Prüfung der gleichmäßigen Beschaffenheit eines medizinischen Silberpräparates bei seiner fabrikmäßigen Herstellung und Aufbewahrung.

13. Es wurden Versuche angestellt über das Verhalten medizinischer Silberpräparate (Argochrom und Kollargol) bei der intravenösen Einspritzung in den tierischen und menschlichen Körper. Insbesondere wurde auch versucht, die Silberion-Konzentration im lebenden Blute zu bestimmen. Die Ergebnisse dieser Versuche, die zunächst als Vorversuche anzusehen sind, bedürfen noch weiterer Aufklärung und Ergänzung.

14. Die Bestimmung der Silberion-Konzentration von medizinischen Silberpräparaten in wässriger Lösung sowie bei Gegenwart von Natriumchlorid oder organischen Körperflüssigkeiten, wie Blutserum, Blut usw. gibt Anhaltspunkte für die Beurteilung des Verhaltens dieser Präparate bei ihrer medizinischen Anwendung.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. Dr. *Th. Paul*, der die Anregung zu vorliegender Arbeit gegeben und mich bei ihrer Ausführung und Abfassung mit wertvollen Ratschlägen unterstützt hat, auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Die Einspritzungen von Silberpräparaten sowie die Entnahme des Blutes für die Versuche mit lebendem Blut wurden in der Universitäts-Frauenklinik durch Herrn Privatdozent Dr. *E. Zweifel* ausgeführt, wofür ihm auch an dieser Stelle mein bester Dank ausgesprochen sei.

Studien über die Umsetzungsgeschwindigkeit des Äthylalkohols beim Kaninchen.

Von
John Olow (Upsala).

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut Lund.)

(Eingegangen am 3. April 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Im Bande 134 dieser Zeitschrift veröffentlichte ich unlängst die Ergebnisse zweier Untersuchungen über den Übergang des Äthylalkohols von der Mutter zur Frucht und vom Blute in die Milch stillender Frauen. Die Untersuchungen wurden mit der von *Widmark* (1) angegebenen Mikromethode zur quantitativen Bestimmung des Alkohols ausgeführt.

Wenn man die Resultate dieser Untersuchungen aus dem Gesichtspunkte ihrer praktischen Verwendbarkeit mustert, kommt man zu folgenden Schlüssen:

Wenn *Nicloux* (2) in seiner zitierten Arbeit (*Recherches expérimentelles sur l'élimination de l'alcool dans l'organisme*), nachdem er den Übergang des Alkohols in die Milch stillender Frauen nachgewiesen hat, in folgender Weise fortfährt: „Nul doute . . . qu'on ne puisse expliquer ainsi les troubles digestifs, les troubles nerveux, voire les convulsions de nouveau-nés, rapportés par les observations cliniques d'un certain nombre d'auteurs, observations d'après lesquelles l'état pathologique des nourrissons aurait eu pour origine l'alcoolisme de la nourrice“, schießt er ohne Zweifel über das Ziel hinaus. Wenn man, mit meinen diesbezüglichen Untersuchungsergebnissen vor den Augen, ein konkretes Beispiel nehmend, annimmt, daß eine stillende Frau 20 g absoluten Alkohols nüchtern einnimmt und später, wenn die Alkoholkonzentration ihres Blutes und ihrer Milch auf dem Höhepunkt sich befindet, ihr Kind stillt, bekommt dieses eine Milch, welche in einem Liter etwa 0,60 g absoluten Alkohols enthält. Ein Mahl von 100 ccm enthält somit 0,06 g absoluten Alkohols; auf ein Körpergewicht von 3 kg verteilt, wird dieses Mahl die Alkoholkonzentration des Körpers

des Kindes mit 0,02 Prom. erhöhen, mit weniger also wie der als normal bezeichnete Alkoholgehalt des Körpers.

Ich habe in meinem Beispiel die ungünstigsten möglichen Vorbedingungen gewählt: Alkoholeinnahme auf nüchternen Magen, Stillen zur Zeit der höchsten Alkoholkonzentration der Milch und ein neugeborenes Kind. Wird aber der Alkohol, wie es ja meistens geschieht, während einer Mahlzeit oder nach derselben eingenommen, wird das Brustmahl nicht zur Zeit der höchsten Alkoholkonzentration der Milch verabreicht, ist das Kind älter und wird somit die eingenommene Alkoholmenge auf ein größeres Körpervolumen verteilt, so wird auch die durch das Brustmahl bewirkte Zunahme der Alkoholkonzentration des kindlichen Blutes noch viel weniger bedeutend. Es fällt unter diesen Vorbedingungen schwer, auch wenn man eine viel größere Alkoholeinnahme von seiten der Mutter annehmen würde, die Digestionsstörungen, die nervösen Störungen oder die Krämpfe aus dieser Quelle herzuleiten.

Anders wird es sich aber vielleicht mit der Alkoholfuhr zur Frucht in der Gebärmutter verhalten. Wenn eine Schwangere Alkohol einnimmt, dauert es, wie meine Untersuchungen nachgewiesen haben, nicht viele Minuten, bis auch die Frucht in der Gebärmutter Alkohol einzunehmen anfängt; und nach einiger Zeit — nach 40 Minuten, wenn der Alkohol dem nüchternen Magen zugeführt wurde — ist die Alkoholkonzentration der Frucht etwa dieselbe wie die der Mutter. Es ist sehr wahrscheinlich, daß eine Zunahme der Alkoholkonzentration des fötalen Blutes bis 0,20 — 0,40 — 0,60 Prom., vielleicht noch höher, wenn sie öfters wiederholt wird, für die empfindlichen Organe und Gewebe der Frucht von ernster Bedeutung sein wird.

Annehmen darf man es, aber nicht mehr, solange wissenschaftlich bindende Beweise noch fehlen. Solche herbeizuschaffen oder wenigstens zur Klärung dieser Frage einigermaßen beizutragen zu suchen, wurde somit das nächste Ziel meiner weiteren Untersuchungen.

Ich warf mir kurz die folgende Fragestellung auf: Wenn ich mit der zu den genannten Untersuchungen verwendeten Methode, welche uns ja die Möglichkeit gibt, gründlicher und genauer das Schicksal des eingenommenen Alkohols im Körper, seine Resorption durch die Schleimhaut des Digestionskanals, seine Verbrennung im Organismus, seine Ausscheidung aus demselben zu verfolgen, als das mit älteren Methoden möglich war, nachweisen könnte, daß die Verbrennung bzw. Ausscheidung des Alkohols bei Tieren, welche an Alkoholkonsumtion gewöhnt waren, rascher verlief als bei solchen, die an dieselbe nicht gewöhnt waren (was ja frühere Untersuchungen gewissermaßen wahrscheinlich machten); wenn ich ferner in derselben Weise eine Zunahme der Verbrennungs- bzw. Ausscheidungsgeschwindigkeit des Alkohols

bei neugeborenen Jungen der alkoholangewöhnten Mütter, im Vergleich zur Verbrennungs- bzw. Ausscheidungsgeschwindigkeit der Jungen nicht alkoholgewöhnter Mütter, nachweisen könnte, dann würde ja eine intrauterine Angewöhnung bewiesen sein, und die „alcooisme congénital“ *Niclouz'* würde damit eine experimentelle Stütze erhalten haben.

Es hieß also zuerst, eine eventuelle Veränderung der Verbrennungs- bzw. Ausscheidungsgeschwindigkeit des Alkohols bei den an Alkohol gewöhnten Tieren nachzuweisen. Und zu allererst, ein genaues Maß und einen genauen Ausdruck für die Geschwindigkeit, mit welcher der Alkohol aus dem Blute der Versuchstiere verschwindet, zu finden.

Ich werde in diesem Aufsätze einen Bericht über einen Versuch in dieser Richtung erstatten.

A. Methodik.

Ich benutzte als Versuchstiere Kaninchen beiderlei Geschlechts. Der Alkohol, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, wurde zugeführt:

1. Durch Einspritzung in eine Ohrvene,
2. durch Einspritzung in die Jugularvene und
3. durch Magensonde in den Magen.

Die gewöhnliche Dosis zur Bestimmung der Abfallgeschwindigkeit der Alkoholkurve im Blute war 0,6 bis 1 g absoluten Alkohols pro Kilogramm Körpergewicht. Der Alkoholgehalt des Blutes wurde bestimmt: vor dem Beginn jedes Versuches und nach der Zufuhr des Alkohols mit anfangs kürzeren, später längeren Zwischenräumen; im allgemeinen wurden 15 bis 20 Bestimmungen in 2 bis 4 Stunden ausgeführt. Die Blutproben wurden aus der Randvene des Ohres genommen, nach Einspritzung des Alkohols in die Ohrvene natürlich aus der Randvene des anderen Ohres.

Von mir unabhängig wurde eine Reihe von 10 Versuchen gleicher Art von cand. med. *Olga Persson* ausgeführt. Für die Überlassung dieses Versuchsmaterials bleibe ich ihr sehr verbunden und benutze die Gelegenheit, ihr meine Dankbarkeit hier auszudrücken.

Ich werde mich zunächst mit den Versuchen mit intravenösen Injektionen beschäftigen.

B. Die Alkoholkonzentration im Blute bei nicht an Alkohol gewöhnten Tieren nach Einspritzung einer Alkohollösung in die Ohrvene.

In allem verfüge ich über 34 diesbezügliche Versuche, an 15 Versuchstieren ausgeführt.

Die *Anfänge der Konzentrationskurven* bieten drei verschiedene Typen dar, welche aus den Abb. 1, 2 und 3 hervorgehen.

In der Kurve A erreicht die Konzentration gleich nach der Injektion ihre höchste Höhe, um dann unmittelbar zu fallen anzufangen.

In der Kurve B sind die ersten Werte verhältnismäßig niedrig; nach einer gleichmäßigen Steigerung erreicht die Konzentration ihre maximale Höhe, um dann unmittelbar zu fallen anzufangen.

In der Kurve C erreicht die Konzentration, wie in der vorigen, nur allmählich ihre höchste Höhe, zeigt aber dann, vor dem Beginn des Abfalles, ein deutliches Plateau.

Der Zeitraum zwischen der Injektion und dem Konzentrationsmaximum der Kurventypen B und C beträgt etwa 30 Minuten (Maximum 46, Minimum 10 Minuten); das Plateau des Kurventypus C beträgt ebenfalls etwa 30 Minuten.

Die Mehrzahl der Versuche, 21, boten den Kurventypus A dar, den Typen B und C folgten die Kurven in acht bzw. zwei Versuchen; in drei Versuchen wurden die ersten Blutproben zu spät genommen, um über den Typus im Anfang der Kurven Aufschlüsse geben zu können.

Ich will es augenblicklich nicht versuchen, den überraschenden Befund zu erklären, daß die

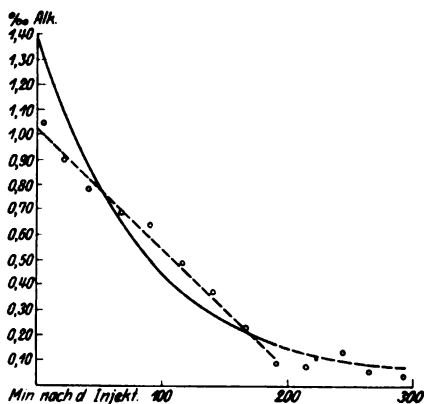


Abb. 1. Kurve A.
— α -Kurve.
- - β -Linie.

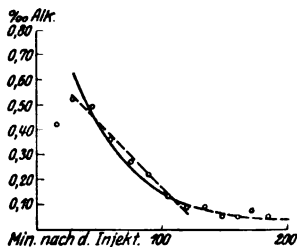


Abb. 2. Kurve B.
— α -Kurve.
- - β -Linie.

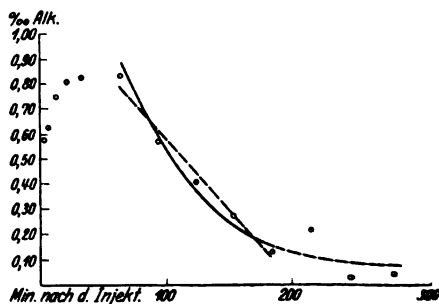


Abb. 3. Kurve C.
— α -Kurve.
- - β -Linie.

Alkoholkonzentration nach intravenöser Einspritzung in die Ohrvene ihr Maximum zuweilen nicht sogleich erreicht, daß sie vielmehr eine Zeitlang nach der Injektion sich in Aufwärtsbewegung befindet. Eine mögliche Fehlerquelle will ich aber besprechen und ausschalten.

Die am nächsten liegende Erklärung wäre vielleicht die, daß bei der Einspritzung der Alkohollösung in die Ohrvene ein Teil der Flüssigkeit in das das Gefäß umgebende Gewebe gelänge und also erst später, nach ihrer Resorption aus den Geweben, vom fließenden Blute aufgenommen wurde. Als ich zum erstenmal eine Kurve dieser Art erhielt, dachte ich aber schon an diese Möglichkeit und war bei den folgenden Versuchen bezüglich dieser Fehlerquelle stets äußerst vorsichtig. Wenn etwa einmal die Einspritzung der Alkohollösung nicht ganz glatt verlief, verzichtete ich immer auf die Vollführung des Versuches, und ich kann somit ganz bestimmt eine Deutung der Erscheinung in dieser Richtung ablehnen.

C. Die Alkoholkonzentration im Blute bei nicht an Alkohol gewöhnten Tieren nach Einspritzung einer Alkohollösung in die Vena jugularis.

Diese Versuche wurden hauptsächlich in der Absicht vorgenommen, um zu entscheiden, ob die Injektion der Alkohollösung in eine größere Vene die genannte Erscheinung der Kurventypen B und C einer allmählichen Steigerung der Alkoholkonzentration ausschalten würde.

Die Versuche wurden mit denselben Alkoholmengen wie in den früher besprochenen Versuchen ausgeführt. Die Einspritzung wurde in Urethannarkose vorgenommen. Um zu entscheiden, ob dieses Narkosemittel, etwa durch Abspalten von Alkohol, die Bestimmungen stören könne, stellte ich einige Vorversuche mit einfachen Urethaninjektionen an; die Versuche ergaben sämtlich, daß das Urethan in dieser Hinsicht ohne Einfluß ist.

Zwischenkommende Hindernisse bewirkten, daß das Versuchsmaterial der Jugularisinjektionen weniger umfassend wurde, als es wünschenswert gewesen wäre, um einen zuverlässigen Vergleich anstellen zu können. Die drei ausgeführten Versuche dieser Art ergaben aber alle eine Kurve vom Typus A. Bei dieser Injektionsweise scheint also die allmähliche Steigerung der Konzentration fortzubleiben. Da diese aber auch bei der Injektion in die Ohrvene in den meisten Versuchen vermißt wurde, sind auf diesem Gebiete weitere Untersuchungen nötig.

Hinsichtlich der Einzelheiten der Messungen verweise ich auf die beigefügten Versuchsprotokolle und gehe jetzt zur Untersuchung über den *fallenden Kurventeil* über, was die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit war.

Ehe ich aber zu dieser Untersuchung übergehe, will ich die Aufmerksamkeit noch auf eine eigentümliche Erscheinung lenken, welche zuweilen auftritt, etwa 20 bis 25 Minuten nachdem die Titrierungswerte bis oder nahe an die niedrige Höhe (0,05 bis 0,02 Prom.), welche

im Blute der Tiere vor der Alkoholinjektion zu finden war, gesunken waren. In 10 von 22 durch eine längere Zeit verfolgten Versuchen trat zur genannten Zeit, bisweilen auch ein wenig später, eine Steigerung der Titrierungswerte ein, 0,10 Prom. Alkohol oder mehr entsprechend; nach weiteren 20 bis 25 Minuten fielen die Werte wieder bis zur Norm. In noch einigen Fällen bieten die Kurven eine Andeutung in gleicher Richtung dar; die Werte der Steigerung liegen aber hier nahe an der Fehlergrenze der Methode, es bleibt somit zweifelhaft, ob diesen Unebenheiten der Kurve irgend eine Bedeutung beizumessen ist.

Diese Erscheinung findet ihr Gegenstück in den von *Bildsten* neuerlich beobachteten Steigerungen der Konzentrationskurven nach Injektion von Methylalkohol. In seinen Versuchen sind aber die Steigerungen viel ausgesprochener und treten zu einer Zeit auf, wo noch verhältnismäßig geringe Mengen des Methylalkohols verschwunden sind.

D. Berechnung der Abfallsgeschwindigkeit der Alkoholkonzentration des Blutes nach Injektion einer einzelnen Dosis.

Die elementarste Art, den Konzentrationsabfall verschiedener Versuchstiere zu vergleichen, ist natürlich jene, den Tieren dieselbe Alkoholmenge pro Kilogramm Körpergewicht zu verabreichen, und dann, nach Bestimmungen der Alkoholkonzentration im Blute die Höhe und die Form der Konzentrationskurven zu vergleichen. Bei früheren Versuchen, den Einfluß der Gewöhnung zu untersuchen, ist man auch in dieser Weise vorgegangen.

Eine größere Genauigkeit und Übersichtlichkeit würde aber erreicht werden, wenn man für den fallenden Teil der Konzentrationskurve einen *mathematischen* Ausdruck finden könnte, in welchem die Abfallsgeschwindigkeit als eine jedem Versuchstiere eigene Konstante eingehe.

Ein solches Verfahren hat *Widmark* (3) bei ganz ähnlichen Versuchsbedingungen, wie sie hier bezüglich des Alkohols vorliegen, angewandt. Die Acetonkonzentration folgt nämlich im Blute beim Fallen dem Gesetz

$$c_t = c_0 \cdot e^{-\alpha t}, \quad (1)$$

wo c_0 = die Konzentration im gegebenen Augenblick, c_t = die Konzentration t Zeiteinheiten später, und α = eine jedem Individuum eigene Konstante ist.

Das Aceton verschwindet somit aus dem Organismus entsprechend einer Reaktion erster Ordnung, und die Abfallsgeschwindigkeit wird durch die Konstante α eindeutig bestimmt.

Der Acetongehalt nimmt somit in jedem Augenblick mit einem Bruchteil (α) der vorhandenen Konzentration ab.

Graphisch wird dieser Verlauf durch eine Exponentialkurve dargestellt. (Vgl. die Abbildungen, ausgezogene Linien.)

Wenn der Äthylalkohol im Blute diesem Gesetz folgte, würde das vorliegende Problem hinsichtlich des Vorkommens einer Gewöhnung durch eine gesteigerte Umsetzungsgeschwindigkeit auf einen Vergleich der Konstanten behandelter und unbehandelter Tiere zurückgeführt werden können. Um die Konstante α zu berechnen, hätte man im idealen Falle nur zwei Bestimmungen nötig, was ja bei Versuchen an neugeborenen Tieren einen unschätzbaren Vorteil bedeuten würde.

Ich habe nun nachgesehen, inwieweit der Abfall der Alkoholkonzentration im Blute jenem Gesetz folgt. Die Technik war dabei die folgende:

Auf Grund der beobachteten Werte des fallenden Teils der Alkoholkurve nach einer einzelnen Dosis ist nach der Methode der kleinsten Quadratenzahlen die Konstante α der Formel (1) berechnet (mit *Briggschen* Logarithmen) und sodann die Exponentialkurve eingezeichnet worden. Wenn man nun die mittlere Abweichung

$$\left(\text{laut } \sigma = \pm \sqrt{\frac{\Delta^2}{n-1}} \right)$$

zwischen gefundenen und berechneten Werten feststellt, bekommt man einen Maßstab, wie nahe die Beobachtungen dem aufgestellten Gesetz folgen. Übersteigt die mittlere Abweichung den mittleren Fehler der Methode nicht, so ist man berechtigt, die Gültigkeit des Gesetzes anzunehmen.

Ich habe diese Berechnungsweise der bei kinetischen Versuchen sonst gebräuchlichen Methode, die Konstanz von α nach verschiedenen Zeitintervallen zu prüfen vorgezogen, weil die Konstante, wegen der Unsicherheit der Beobachtungen, allzu großen Schwankungen unterworfen ist, um bequem beurteilt werden zu können.

Indessen hat schon früher *Mellanby* (4) in Versuchen an Hunden — freilich mit viel größeren Alkoholmengen — nachgewiesen, daß der Konzentrationsabfall *geradlinig* verläuft; d. h. *eine konstante Menge Alkohol wird, unabhängig von der vorhandenen Alkoholkonzentration des Körpers, pro Zeiteinheit umgesetzt*. Was also bedeuten sollte, daß die Fähigkeit des Organismus, den Alkohol umzusetzen, ihre maximale Grenze schon bei sehr geringen Alkoholmengen erreicht und dieselbe auch bei beträchtlich gesteigerter Alkoholmenge beibehält. Ein derartiger Umsatz würde durch diese Formel ausgedrückt werden:

$$c_t = c_0 - \beta t, \quad (2)$$

wo β wieder eine jedem Individuum eigene Konstante wäre, und zwar ein Ausdruck für die maximale Senkung der Konzentration, welche das betreffende Individuum in jeder Zeiteinheit leisten kann.

E. Berechnung des Versuchsmaterials.

Schon eine oberflächliche Musterung der Konzentrationskurven des vorliegenden Materials gibt den Eindruck, daß der fallende Teil der Kurve eher geradlinig ist, als daß er der Exponentialkurve folgt. Es fällt freilich oftmals schwer, teils wegen der geringen Krümmung der Exponentialkurve bei den hier vorkommenden Konzentrationsveränderungen, teils wegen der Unsicherheit, welche zuweilen den Bestimmungen anhaftet, ohne eine eingehende Analyse zu entscheiden, welchem der beiden Gesetze der Konzentrationsabfall folgt. Ich habe deshalb sämtliche Kurven laut (2) wie laut (1) behandelt. Die mittleren Abweichungen von der α -Kurve wie von der β -Linie habe ich zum Vergleich in der Tabelle I zusammengestellt; in der Tabelle sind die Konstanten α und β auch noch angegeben worden.

In den verschiedenen Versuchen ist die Konstante jener Kurve, welche den beobachteten Werten am besten folgt, fett gedruckt.

Man findet, daß *die beobachteten Werte in den meisten Fällen auf einer Geraden liegen*. Dies ist in 27 von den 37 Versuchen der Fall, während nur in neun die Exponentialkurve die wahrscheinlichste ist. In einem Fall ist die mittlere Abweichung für beide Eventualitäten gleich groß, hier ist die Frage also unentschieden.

Vergleichen wir die mittleren Abweichungen mit dem Mittelfehler der Methode, welcher zu 0,05 Prom. geschätzt werden kann, finden wir, daß die Konzentrationskurve in 16 Versuchen bestimmt der geraden Linie, in 3 Versuchen bestimmt der Exponentialkurve folgt (die Mittelabweichungen der einen Kurve liegen innerhalb des mittleren Fehlers der Methode, die Abweichungen der anderen außerhalb). In zehn Versuchen ist die mittlere Abweichung von beiden ungefähr gleich gering, und beide Werte liegen innerhalb der hier angegebenen Fehlergrenzen. In vier Versuchen liegen die mittleren Abweichungen von beiden Kurven außerhalb der Fehlergrenzen und sind ungefähr gleich groß.

Nun kann man sich fragen, ob es möglich ist, daß es individuelle Verschiedenheiten in der Art des Alkoholumsatzes verschiedener Tiere gibt oder ob wir das Vorkommen eines Typus annehmen müssen, der unter gewissen gelegentlichen Umständen in einen anderen übergehen kann.

Das gleichzeitige Vorkommen dieser beiden verschiedenen Typen könnte man sich dann vorstellen, wenn die Elimination durch die Lungen quantitativ bedeutend variieren könnte. Wie *Widmark* (3) gezeigt hat, muß der Konzentrationsfall für ein indifferentes Narkotikum, welches zur Gänze durch die Lungen eliminiert wird, einer Exponentialkurve folgen. Wird angenommen, daß der Konzentrationsfall durch die chemische Umsetzung ein geradliniger ist, so sollte man sich in dem Falle, wo die Elimination durch die Lungen bei einer gewissen Gelegenheit überwiegt, denken können, daß die Exponentialkurve

Tabelle I.

Ver- suchstier	Ver- suchs-Nr.	Kurven- typus	Fallender Teil der Kurve				Injektionsort
			nach $c_t = c_0 \cdot e^{-\alpha t}$		nach $c_t = c_0 - \beta t$		
			α	mittlere Abweichung	β	mittlere Abweichung	
A	1		0,014	0,050	0,0031	0,078	Ohrvene
	2		0,010	0,027	0,0043	0,046	"
B	3	A	0,009	0,028	0,0082	0,024	"
	4		0,010	0,046	0,0087	0,033	"
C	5	A	0,015	0,092	0,0046	0,048	"
	8	A	0,014	0,103	0,0048	0,073	"
D	6	A	0,018	0,029	0,0047	0,045	"
	9	A	0,017	0,021	0,0058	0,036	"
E	7	A	0,009	0,018	0,0035	0,048	"
	10	A	0,009	0,070	0,0035	0,070	"
F	11	B	0,020	0,051	0,0050	0,024	"
G	12	A	0,005	0,025	0,0025	0,017	"
H	13	B	0,014	0,024	0,0052	0,059	"
	20	A	0,010	0,062	0,0088	0,037	"
	21	C	0,015	0,044	0,0056	0,039	"
	28	A	0,011	0,098	0,0048	0,031	"
	35	A	0,013	0,088	0,0089	0,051	"
	36	A	0,007	0,096	0,0027	0,075	Jugularis
I	16	A	0,015	0,025	0,0041	0,074	Ohrvene
	22	A	0,018	0,165	0,0050	0,050	"
	30	A	0,016	0,091	0,0055	0,054	"
	31	A	0,008	0,024	0,0040	0,045	Jugularis
J	18	A	0,012	0,062	0,0089	0,023	Ohrvene
	23	A	0,010	0,134	0,0088	0,041	"
	32	A	0,012	0,055	0,0048	0,039	"
	33	A	0,010	0,078	0,0042	0,088	Jugularis
K	17	A	0,011	0,087	0,0042	0,052	Ohrvene
	25	A	0,008	0,057	0,0085	0,035	"
	29	B	0,015	0,118	0,0088	0,068	"
L	27	C	0,008	0,084	0,0028	0,036	"
	34	B	0,014	0,121	0,0044	0,039	"
M	19	B	0,005	0,068	0,0028	0,039	"
N	14	A	0,011	0,109	0,0047	0,029	"
	24	B	0,014	0,032	0,0042	0,030	"
	26	B	0,010	0,104	0,0042	0,059	"
	37	B	0,027	0,181	0,0056	0,052	"
O	15	A	0,008	0,133	0,0048	0,090	"

stärker hervortritt, während sonst bei vorherrschender Verbrennung wiederum die gerade Linie erscheinen sollte. Nun ist indessen bei mehreren Gelegenheiten gezeigt worden, daß die Elimination des Äthylalkohols durch die Lungen und Nieren ganz unbedeutend ist und ver-

glichen mit der chemischen Umsetzung desselben vernachlässigt werden kann. Diese Möglichkeit kann also zur Erklärung der Variationen der Kurventype ausgeschlossen werden.

Eine Prüfung der Tabelle zeigt ferner, daß es sich bei den verschiedenen Tieren *nicht* um durchweg *individuelle* Verschiedenheiten handelt: ein und dasselbe Tier kann bei verschiedenen Gelegenheiten beide Kurventypen aufweisen.

Aus folgendem Anlaß scheint es mir jedoch am wahrscheinlichsten, anzunehmen, daß *das Hervortreten des exponentialen Typus der Konzentrationskurve durch die Gegenwart gewisser störender Momente verursacht wird, welche im Grunde mit der Elimination des Alkohols durch Umsetzung und Ausscheidung nichts zu tun haben.*

Der eine von diesen Faktoren ist ein mangelhaftes Diffusionsgleichgewicht knapp nach der Injektion. Wenn der Alkohol sehr schnell in das Blut gelangt, so muß, bis der Alkohol in die Gewebe sich verteilt hat, ein verhältnismäßig schneller Sturz der Konzentration im Blut statthaben, weil größere Mengen des Alkohols durch die Gefäßwände in die Umgebung diffundieren. Diese Alkoholentziehung aus dem Blute, welche sich zum Alkoholumsatz im Blute summiert, bewirkt folglich im Anfang einen steileren Verlauf der Kurve.

Der zweite Faktor übt seinen Einfluß auf den späteren Teil der Kurve aus. Wir wissen, daß das Blut, auch im Falle absoluter Alkoholabstinenz, geringe Mengen flüchtiger, das Bichromat reduzierender Verbindungen enthält, welche, als Äthylalkohol berechnet, bis auf eine Konzentration von etwa 0,03 Prom. steigen. Der Beweis liegt nicht vor, daß es sich hier wirklich um Äthylalkohol handelt. Indessen bewirken diese Verbindungen, daß eine früher gerade Kurve in ihrem späteren Teil langsamer sinkt; die Kurve erreicht nie die Nulllinie, sondern biegt in dieser Gegend wie eine Exponentialkurve ab. Bei den Berechnungen der Kurven habe ich deshalb im allgemeinen Werte, die niedriger als 0,10 bis 0,08 Prom. sind, nicht mitgenommen.

Obgleich die beiden hier untersuchten Gesetze für die Umsatzgeschwindigkeit des Alkohols aus theoretischen Gesichtspunkten fundamentale Verschiedenheiten darbieten und gewissermaßen als Gegensätze einander gegenüberstehen, ist ihre Verschiedenheit von viel weniger Bedeutung, wenn es gilt, das praktische Ziel zu verfolgen, eine eventuelle Veränderung der Umsatzgeschwindigkeit bei einem und demselben Individuum nachzuweisen, bei Eingabe von Alkoholmengen derselben Größe, besonders wenn die Konzentrationsverhältnisse eines nur relativ kurzen Zeitraumes in Betracht kommen. Denn ein je kleinerer Teil der Kurve beobachtet wird, je mehr nähert sich die Exponentialkurve der geraden Linie.

F. Versuchsprotokolle.

Versuch 1.

8. Mai 1922. Kaninchen A. Gewicht 3120 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,0 g Äthylalkohol, 0,64 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
30	0,60	0,50	0,47	123	0,14	0,14	0,18
35	0,56	0,47	0,45	149	0,10	0,10	0,10
59	0,28	0,34	0,38	151	0,08	0,10	0,10
61	0,26	0,33	0,37	180	0,06	0,06	0,09
94	0,21	0,21	0,27	182	0,08	0,06	0,08
121	0,16	0,14	0,19				

$\alpha = 0,0137$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,050$.

$\beta = 0,00305$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,078$.

Versuch 2.

10. Mai 1922. Kaninchen A. Gewicht 3120 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,48 g Äthylalkohol, 0,79 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
32	0,85	0,83	0,75	109	0,42	0,38	0,42
42	0,73	0,74	0,71	134	0,31	0,29	0,31
51	0,66	0,68	0,67	151	0,27	0,25	0,23
67	0,57	0,58	0,60	175	0,17	0,19	0,13
78	0,49	0,52	0,55	204	0,17	—	—
88	0,51	0,47	0,51	237	0,07	—	—
98	0,40	0,43	0,46				

$\alpha = 0,010154$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,027$.

$\beta = 0,004343$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,046$.

Versuch 3.

12. Mai 1922. Kaninchen B. Gewicht 1950 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,77 g Äthylalkohol, 0,91 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
46	0,69	0,75	0,67	126	0,39	0,37	0,42
68	0,62	0,62	0,60	178	0,23	0,23	0,25
88	0,54	0,52	0,54	215	0,16	0,17	0,13
108	0,45	0,43	0,47				

$\alpha = 0,0089$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,028$.

$\beta = 0,00323$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,024$.

Versuch 4. 2. Juni 1922. Kaninchen B. Gewicht 2180 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,77 g Äthylalkohol, 0,81 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
11	0,71	0,81	0,70	110	0,30	0,30	0,33
31	0,65	0,66	0,62	126	0,22	0,25	0,27
44	0,56	0,57	0,58	141	0,21	0,22	0,21
61	0,55	0,48	0,51	174	0,15	0,16	0,09
79	0,45	0,41	0,44	203	0,14	—	—
94	0,39	0,35	0,39	233	0,06	—	—

$\alpha = 0,01014$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,046$.

$\beta = 0,00374$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,033$.

Versuch 5. 29. September 1922. Kaninchen C. Gewicht 2925 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,87 g Äthylalkohol, 0,64 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
6	0,75	0,81	0,70	65	0,39	0,34	0,43
10	0,60	0,77	0,68	102	0,24	0,20	0,26
29	0,64	0,58	0,60	140	0,08	0,11	0,09
45	0,56	0,46	0,52	174	0,03	—	—

$\alpha = 0,01489$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,092$.

$\beta = 0,00460$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,048$.

Versuch 6. 3. Oktober 1922. Kaninchen D. Gewicht 3100 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,87 g Äthylalkohol, 0,60 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
5	0,63	0,66	0,57	57	0,27	0,26	0,33
10	0,59	0,60	0,55	93	0,18	0,13	0,16
16	0,50	0,54	0,52	123	0,06	0,08	0,02
26	0,47	0,45	0,47	152	0,02	—	—
38	0,36	0,36	0,41	180	0,02	—	—

$\alpha = 0,01822$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,029$.

$\beta = 0,00467$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,045$.

Versuch 7. 5. Oktober 1922. Kaninchen E. Gewicht 2700 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,87 g Äthylalkohol, 0,69 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
4	0,72	0,70	0,66	80	0,36	0,36	0,35
12	0,62	0,66	0,63	95	0,31	0,31	0,30
39	0,53	0,52	0,49	123	0,25	0,24	0,20
60	0,43	0,43	0,42	155	0,18	0,18	0,09

$\alpha = 0,0089$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,018$.

$\beta = 0,00347$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,048$.

Versuch 8.

6. Oktober 1922. Kaninchen C. Gewicht 2900 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,87 g Äthylalkohol, 0,64 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{\text{obs.}}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{\text{obs.}}$	C_{α}	C_{β}
5	0,75	0,77	0,69	72	0,42	0,30	0,36
10	0,52	0,72	0,67	97	0,19	0,21	0,24
17	0,62	0,65	0,63	120	0,12	0,15	0,13
37	0,60	0,49	0,53	150	0,05	—	—
53	0,46	0,39	0,46				

$\alpha = 0,01418$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,103$.

$\beta = 0,00480$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,073$.

Versuch 9.

9. Oktober 1922. Kaninchen D. Gewicht 3100 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,87 g Äthylalkohol, 0,60 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{\text{obs.}}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{\text{obs.}}$	C_{α}	C_{β}
5	0,71	0,71	0,64	64	0,30	0,26	0,30
11	0,62	0,64	0,61	80	0,20	0,20	0,21
17	0,54	0,57	0,57	99	0,13	0,14	0,10
27	0,48	0,48	0,51	123	0,07	—	—
40	0,40	0,39	0,44	149	0,04	—	—

$\alpha = 0,016924$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,021$.

$\beta = 0,005788$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,036$.

Versuch 10.

11. Oktober 1922. Kaninchen E. Gewicht 2860 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,87 g Äthylalkohol, 0,65 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{\text{obs.}}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{\text{obs.}}$	C_{α}	C_{β}
8	0,80	0,72	0,68	88	0,48	0,35	0,40
11	0,66	0,70	0,67	106	0,29	0,30	0,33
17	0,56	0,67	0,65	128	0,20	0,24	0,25
45	0,50	0,52	0,55	165	0,17	0,17	0,12
57	0,49	0,46	0,51				

$\alpha = 0,00915$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,070$.

$\beta = 0,00353$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,070$.

Versuch 11.

12. Januar 1923. Kaninchen F ♂. Gewicht 3015 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,25 g Äthylalkohol, 0,74 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
15	0,42	—	—	120	0,09	0,10	0,07
28	0,52	(0,63)	0,53	134	0,09	—	—
44	0,49	0,46	0,45	149	0,05	—	—
58	0,36	0,34	0,38	161	0,05	—	—
74	0,27	0,25	0,30	172	0,07	—	—
89	0,22	0,18	0,22	185	0,05	—	—
104	0,13	0,14	0,15				

$\alpha = 0,02007$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,051$.

$\beta = 0,00501$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,024$.

Versuch 12.

15. Januar 1923. Kaninchen G ♂. Gewicht 3115 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,7 g Äthylalkohol, 0,87 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
20	0,76	0,79	0,75	104	0,53	0,52	0,54
34	0,70	0,74	0,71	117	0,49	0,48	0,50
50	0,65	0,68	0,67	142	0,41	0,43	0,44
67	0,64	0,62	0,63	157	0,42	0,39	0,40
81	0,60	0,58	0,59	177	0,37	0,36	0,35

$\alpha = 0,00509$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,025$.

$\beta = 0,0025$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,017$.

Versuch 13.

16. Januar 1923. Kaninchen H ♀. Gewicht 1960 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,8 g Äthylalkohol, 1,02 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
32	0,60	—	—	132	0,24	0,22	0,22
49	0,74	0,70	0,66	152	0,16	0,16	0,12
65	0,56	0,56	0,57	169	0,04	—	—
79	0,45	0,46	0,50	176	0,05	—	—
99	0,32	0,35	0,40	193	0,03	—	—

$\alpha = 0,014111$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,024$.

$\beta = 0,005213$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,059$.

Versuch 14.

19. Januar 1923. Kaninchen N ♂. Gewicht 2760 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,7 g Äthylalkohol, 0,98 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
13	0,90	1,10	0,95	88	0,57	0,48	0,60
16	0,94	1,07	0,94	115	0,45	0,36	0,47
32	0,88	0,90	0,86	168	0,21	0,20	0,22
48	0,81	0,75	0,78	191	0,12	0,15	0,11
64	0,75	0,63	0,71				

$\alpha = 0,01098$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,109$.

$\beta = 0,0047$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,029$.

Versuch 15.

20. Januar 1923. Kaninchen O ♀. Gewicht 1850 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,8 g Äthylalkohol, 1,08 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
20	1,24	1,36	1,14	146	0,70	0,50	0,60
50	0,86	1,07	1,01	178	0,40	0,38	0,46
85	0,92	0,81	0,86	217	0,24	0,28	0,29
115	0,67	0,64	0,73	257	0,19	0,20	0,12

$\alpha = 0,00800$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,133$.

$\beta = 0,00428$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,090$.

Versuch 16.

23. Januar 1923. Kaninchen I ♀. Gewicht 2500 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,25 g Äthylalkohol, 1,1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
14	0,74	—	—	160	0,15	0,15	0,16
35	0,70	—	—	182	0,11	0,10	0,07
69	0,63	0,60	0,54	217	0,01	—	—
99	0,40	0,38	0,41	241	0,03	—	—
121	0,21	0,27	0,32				

$\alpha = 0,01545$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,025$.

$\beta = 0,00414$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,074$.

Versuch 17.

25. Januar 1923. Kaninchen K ♀. Gewicht 2500 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,7 g Äthylalkohol, 1,08 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
17	0,93	—	—	158	0,27	0,24	0,30
28	0,96	—	—	173	0,18	0,20	0,24
45	0,71	0,84	0,78	200	0,13	0,15	0,13
50	0,68	0,80	0,75	210	0,15	0,13	0,09
74	0,68	0,61	0,65	220	0,07	0,12	0,05
78	0,66	0,58	0,64	231	0,08	—	—
96	0,49	0,47	0,56	240	0,04	—	—
111	0,50	0,40	0,50	250	0,05	—	—
121	0,42	0,36	0,46	260	0,09	—	—
135	0,47	0,30	0,40				

$\alpha = 0,011303$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,087$.

$\beta = 0,004168$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,052$.

Versuch 18.

27. Januar 1923. Kaninchen J ♂. Gewicht 3600 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 4 g Äthylalkohol, 1,1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
26	0,75	0,99	0,75	173	0,16	0,16	0,19
67	0,57	0,59	0,59	205	0,08	0,11	0,06
83	0,57	0,49	0,53	230	0,07	—	—
113	0,42	0,34	0,42	264	0,05	—	—
142	0,30	0,24	0,30	293	0,04	—	—

$\alpha = 0,01235$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,062$.

$\beta = 0,00386$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,023$.

Versuch 19.

27. Januar 1923. Kaninchen M ♂. Gewicht 2550 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,7 g Äthylalkohol, 1,06 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
44	0,75	—	—	181	0,55	0,51	0,55
60	0,83	0,94	0,87	206	0,47	0,46	0,48
89	0,79	0,81	0,79	238	0,42	0,39	0,40
118	0,70	0,70	0,71	268	0,27	0,34	0,32
150	0,71	0,60	0,63				

$\alpha = 0,00493$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,068$.

$\beta = 0,00263$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,039$.

Versuch 20. 14. Februar 1923. Kaninchen H ♀. Gewicht 2200 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,25 g Äthylalkohol, 1,02 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
11	0,81	—	—	121	0,47	0,39	0,45
13	0,85	—	—	140	0,37	0,32	0,38
33	0,65	—	—	165	0,31	0,26	0,29
43	0,75	0,81	0,73	191	0,20	0,20	0,20
47	0,73	0,78	0,71	209	0,11	0,17	0,14
52	0,76	0,75	0,70	229	0,21	—	—
56	0,63	0,72	0,68	250	0,10	—	—
61	0,63	0,68	0,66	271	0,11	—	—
75	0,54	0,60	0,61	292	0,12	—	—
89	0,60	0,52	0,56	312	0,09	—	—
106	0,52	0,45	0,50				

$\alpha = 0,00947$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,062$.

$\beta = 0,003563$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,037$.

Versuch 21. 27. Februar 1923. Kaninchen H ♀. Gewicht 2450 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,95 g Äthylalkohol, 1,2 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
4	0,58	—	—	93	0,57	0,58	0,61
6	0,63	—	—	124	0,41	0,37	0,44
8	0,79	—	—	153	0,27	0,24	0,28
12	0,75	—	—	184	0,13	0,15	0,10
19	0,75	—	—	214	0,22	—	—
22	0,81	—	—	244	0,02	—	—
32	0,83	—	—	273	0,03	—	—
63	0,83	0,90	0,78				

$\alpha = 0,01482$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,044$.

$\beta = 0,00569$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,039$.

Versuch 22. 1. März 1923. Kaninchen I ♀. Gewicht 2370 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 3 g Äthylalkohol, 1,26 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
2	1,26	—	—	71	0,91	1,23	0,82
6	0,98	—	—	102	0,69	0,72	0,67
9	1,11	—	—	140	0,52	0,37	0,48
12	1,06	—	—	170	0,32	0,22	0,33
15	1,25	—	—	202	0,12	0,12	0,17
19	1,01	—	—	226	0,05	0,08	0,05
35	0,98	—	—				
44	1,12	—	—				
54	0,77	—	—				

$\alpha = 0,017575$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,165$.

$\beta = 0,00498$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,050$.

Versuch 23.

9. März 1923. Kaninchen J ♂. Gewicht 3830 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 3,7 g Äthylalkohol, 0,97 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
8	1,04	1,19	0,97	113	0,52	0,43	0,57
13	0,98	1,13	0,95	143	0,47	0,32	0,45
19	0,87	1,07	0,93	158	0,41	0,28	0,40
24	0,90	1,02	0,91	177	0,36	0,23	0,32
30	0,83	0,96	0,88	197	0,28	0,19	0,25
51	0,83	0,79	0,80	239	0,04	0,13	0,09
93	0,65	0,52	0,64				

$\alpha = 0,00962$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,134$.

$\beta = 0,00382$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,041$.

Versuch 24.

10. März 1923. Kaninchen N ♂. Gewicht 2785 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,7 g Äthylalkohol, 0,96 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
2	0,71	—	—	69	0,54	0,56	0,57
7	0,81	—	—	147	0,23	0,19	0,24
13	0,83	—	—	166	0,15	0,14	0,16
17	1,01	—	—	187	0,08	0,10	0,07
23	0,72	—	—	208	0,06	—	—
28	0,86	—	—	228	0,06	—	—
49	0,70	0,74	0,65	272	0,08	—	—

$\alpha = 0,01416$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,032$.

$\beta = 0,004208$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,030$.

Versuch 25.

12. März 1923. Kaninchen K ♀. Gewicht 2880 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,9 g Äthylalkohol, 1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
2	1,09	—	—	131	0,46	0,36	0,39
16	0,89	—	—	152	0,31	0,31	0,31
33	0,71	0,79	0,73	173	0,21	0,26	0,24
47	0,68	0,71	0,68	192	0,29	—	—
61	0,65	0,63	0,63	212	0,16	—	—
77	0,52	0,56	0,57	231	0,20	—	—
92	0,55	0,49	0,52	252	0,20	—	—
112	0,44	0,42	0,45				

$\alpha = 0,007936$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,057$.

$\beta = 0,00345$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,035$.

Versuch 26.

15. März 1923. Kaninchen N ♂. Gewicht 2830 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,7 g Äthylalkohol, 0,95 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
9	0,83	—	—	137	0,41	0,38	0,46
24	0,93	1,12	0,94	157	0,37	0,31	0,38
40	0,90	0,96	0,87	178	0,30	0,26	0,29
55	0,75	0,83	0,80	198	0,12	0,21	0,20
74	0,79	0,69	0,72	219	0,18	0,17	0,11
95	0,57	0,57	0,64	260	0,19	—	—
115	0,64	0,47	0,55	282	0,14	—	—

$\alpha = 0,009579$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,104$.

$\beta = 0,004211$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,059$.

Versuch 27.

23. März 1923. Kaninchen L ♀. Gewicht 1970 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 1,8 g Äthylalkohol, 0,91 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
3	0,50	—	—	129	0,45	0,46	0,49
18	0,67	—	—	148	0,47	0,39	0,44
36	0,68	—	—	169	0,41	0,33	0,39
56	0,68	0,84	0,68	189	0,39	0,28	0,34
71	0,64	0,74	0,64	231	0,24	0,20	0,23
88	0,61	0,64	0,60	251	0,12	0,17	0,18
110	0,60	0,54	0,54	273	0,11	0,14	0,12

$\alpha = 0,00819$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,084$.

$\beta = 0,002574$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,036$.

Versuch 28.

4. April 1923. Kaninchen H ♀. Gewicht 2570 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 3,1 g Äthylalkohol, 1,2 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β	Zeit Minuten	C _{obs.}	C _α	C _β
6	1,04	1,26	1,00	166	0,23	0,21	0,23
21	0,90	1,06	0,93	191	0,09	0,16	0,11
41	0,78	0,85	0,83	215	0,08	—	—
67	0,69	0,64	0,71	243	0,13	—	—
90	0,64	0,49	0,60	266	0,06	—	—
116	0,49	0,37	0,47	293	0,04	—	—
140	0,37	0,28	0,36				

$\alpha = 0,011169$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,098$.

$\beta = 0,004793$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,031$.

Versuch 29.

11. April 1923. Kaninchen K ♀. Gewicht 3110 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 3 g Äthylalkohol, 0,96 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
25	0,65	—	—	144	0,44	0,32	0,46
45	0,87	—	—	185	0,31	0,18	0,30
66	0,85	1,01	0,76	204	0,20	0,14	0,23
86	0,64	0,75	0,68	224	0,08	—	—
104	0,50	0,58	0,61	245	0,06	—	—
124	0,47	0,43	0,54	269	0,02	—	—

$\alpha = 0,01468$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,118$.

$\beta = 0,003835$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,068$.

Versuch 30.

13. April 1923. Kaninchen I ♀. Gewicht 2600 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,9 g Äthylalkohol, 1,1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
5	0,99	—	1,07	146	0,22	0,23	0,30
25	0,98	—	0,96	167	0,23	0,16	0,18
47	0,91	1,12	0,84	189	0,07	0,11	0,06
67	0,80	0,81	0,73	207	0,07	—	—
87	0,65	0,59	0,62	227	0,06	—	—
108	0,44	0,42	0,50	248	0,07	—	—
126	0,37	0,31	0,41	270	0,14	—	—

$\alpha = 0,016198$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,091$.

$\beta = 0,005464$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,054$.

Versuch 31.

14. April 1923. Kaninchen I ♀. Gewicht 2600 g. Intravenöse Injektion in die Jugularis von 1,8 g Äthylalkohol, 0,7 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
10	0,86	0,83	0,79	100	0,42	0,40	0,43
18	0,79	0,78	0,76	125	0,35	0,33	0,33
24	0,72	0,74	0,73	150	0,27	0,27	0,23
33	0,70	0,69	0,70	201	0,14	—	—
44	0,65	0,63	0,65	226	0,11	—	—
55	0,55	0,58	0,61	252	0,14	—	—
75	0,45	0,49	0,53	276	0,14	—	—

$\alpha = 0,007958$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,024$.

$\beta = 0,004035$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,045$.

Versuch 32.

17. April 1923. Kaninchen J ♂. Gewicht 3725 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 3,7 g Äthylalkohol, 1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
5	0,84	1,03	0,88	146	0,20	0,19	0,20
14	0,91	0,93	0,84	172	0,11	0,14	0,07
25	0,76	0,81	0,78	196	0,14	—	—
48	0,67	0,62	0,67	222	0,10	—	—
72	0,58	0,46	0,56	248	0,16	—	—
97	0,40	0,34	0,43	272	0,12	—	—
121	0,27	0,26	0,32				

$\alpha = 0,011931$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,087$.

$\beta = 0,004845$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,039$.

Versuch 33.

18. April 1923. Kaninchen J ♂. Gewicht 3725 g. Intravenöse Injektion in die Jugularis von 2,7 g Äthylalkohol, 0,7 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
10	1,09	1,02	0,88	120	0,42	0,34	0,42
15	0,76	0,96	0,86	150	0,32	0,25	0,29
25	0,87	0,87	0,82	181	0,16	0,18	0,16
36	0,75	0,78	0,77	210	0,12	0,14	0,04
51	0,72	0,67	0,71	240	0,29	—	—
72	0,53	0,54	0,62	274	0,29	—	—
91	0,47	0,45	0,54				

$\alpha = 0,01001$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,078$.

$\beta = 0,004183$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,088$.

Versuch 34.

19. April 1923. Kaninchen L ♀. Gewicht 2130 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2 g Äthylalkohol, 0,94 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
5	0,64	—	—	103	0,41	0,30	0,44
10	0,92	1,10	0,85	139	0,25	0,18	0,28
16	0,83	1,01	0,82	172	0,12	0,12	0,14
26	0,77	0,88	0,78	208	0,04	—	—
55	0,60	0,59	0,65	243	0,06	—	—
78	0,52	0,43	0,55	280	0,36	—	—

$\alpha = 0,013789$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,121$.

$\beta = 0,004379$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,039$.

Versuch 35.

24. April 1923. Kaninchen H ♀. Gewicht 2790 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,8 g Äthylalkohol, 1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
5	0,62	0,74	0,65	125	0,11	0,17	0,18
10	0,57	0,70	0,64	149	0,12	0,12	0,09
17	0,67	0,64	0,61	174	0,10	—	—
25	0,54	0,58	0,58	200	0,19	—	—
35	0,56	0,51	0,54	226	0,06	—	—
50	0,56	0,42	0,48	251	0,01	—	—
74	0,39	0,31	0,38	278	0,08	—	—
101	0,28	0,22	0,28				

$\alpha = 0,012524$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,088$.

$\beta = 0,003916$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,051$.

Versuch 36.

25. April 1923. Kaninchen H ♀. Gewicht 2800 g. Intravenöse Injektion in die Jugularis von 2,8 g Äthylalkohol, 1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
7	0,98	1,07	0,86	101	0,67	0,53	0,61
12	0,93	0,99	0,85	126	0,47	0,45	0,54
21	0,72	0,93	0,82	152	0,40	0,37	0,47
32	0,74	0,85	0,79	181	0,32	0,30	0,40
42	0,75	0,80	0,77	213	0,26	0,24	0,31
53	0,79	0,74	0,74	242	0,16	0,20	0,23
67	0,73	0,67	0,70	277	0,14	0,16	0,14
81	0,78	0,61	0,66				

$\alpha = 0,006938$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,096$.

$\beta = 0,002681$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,075$.

Versuch 37.

28. April 1923. Kaninchen N ♂. Gewicht 2610 g. Intravenöse Injektion in die Ohrvene von 2,6 g Äthylalkohol, 1 g pro Kilogramm Körpergewicht entsprechend.

Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}	Zeit Minuten	$C_{obs.}$	C_{α}	C_{β}
5	0,60	—	—	119	0,40	0,14	0,30
10	0,66	—	—	145	0,11	0,07	0,16
20	0,77	—	—	171	0,01	0,03	0,01
31	0,82	—	—	195	0,04	—	—
50	0,67	0,92	0,69	219	0,01	—	—
69	0,56	0,55	0,58	245	0,30	—	—
95	0,45	0,27	0,44	275	0,20	—	—

$\alpha = 0,02721$; mittlere Abweichung von der α -Kurve = $\pm 0,181$.

$\beta = 0,00560$; „ „ „ „ β -Linie = $\pm 0,052$.

G. Zusammenfassung.

Mit der Untersuchung wurde beabsichtigt, ein einfaches Maß für die Umsetzungsgeschwindigkeit des Äthylalkohols bei Kaninchen zu erhalten, wodurch man auf eine genauere Weise als bisher die Umsetzung bei an Alkohol nicht gewöhnten mit der bei an diesen gewöhnten Tieren vergleichen können sollte.

Wenn man den Fall der Alkoholkonzentration im Blute nach Injektion einer einzelnen kleinen Dosis durch wiederholte Bestimmungen verfolgt, findet man, daß dieser, abgesehen von gewissen Störungen, die wahrscheinlich mit der Umsetzung des Alkohols nichts zu tun haben, geradlinig verläuft. Die Kurve kann durch folgende Gleichung ausgedrückt werden $c_t = c_0 - \beta t$, in der β eine Konstante darstellt, die die Umsetzungsgeschwindigkeit eindeutig angibt. Diese Konstante variiert für an Alkohol nicht gewöhnte ruhende Tiere in den verschiedenen Versuchen zwischen den Werten 0,002 und 0,0058. Die Ursache für die Variationen der Konstanten, welche sowohl für die verschiedenen Tiere, wie für ein und dasselbe Tier recht groß sind, wurden noch nicht untersucht.

Literatur.

- 1) *Widmark*, diese Zeitschr. 181, 473, 1922. — 2) *Nicloux*, Dion, Editeur, Paris 1900. — 3) *Widmark*, Acta med. Scand. 52, 87—164, 1919. — 4) *Mellanby*, Medical Research Council, Nr. 31.
-

Über die Spezifität der antiphenolatischen Immunsera.

Von

A. Bach und W. Engelhardt.

(Aus dem biochemischen Institut des Kommissariats für Volksgesundheit
in Moskau.)

(Eingegangen am 4. April 1924.)

In einer früheren Mitteilung (1) wurde gezeigt, daß nach Einführen von Phenolaselösung in die Ohrvene von Kaninchen das Serum der Versuchstiere echte, von der Natur der Substrate und der Reaktion des Milieus unabhängige antiphenolatische Eigenschaften aufweist, während das Normalserum nur scheinbare antiphenolatische Eigenschaften besitzt (2). Im Laufe weiterer Untersuchungen wurden noch 13, insgesamt also 19 Kaninchen gegen Phenolase immunisiert, darunter 17 mit ausgesprochenem positiven Erfolg. Die Erscheinung der antiphenolatischen Immunisation unterliegt also keinem Zweifel.

Im Vergleich mit anderen Antigenen bietet die Phenolase den Vorzug, daß der Verlauf der antiphenolatischen Immunisation sehr leicht in quantitativer Hinsicht verfolgt werden kann. Wir wählten daher diese Reaktion, um dem Problem der Antikörper auf experimentellem Wege etwas näher zu treten. Bekanntlich kommt der Phenolase keinerlei Spezifität im üblichen Sinne des Wortes zu. Ganz unabhängig von seiner Herkunft beschleunigt das Ferment die Oxydation einer umfangreichen Reihe von verschiedenen Phenolen und aromatischen Aminen, sowie die Oxydation von Jodwasserstoffsäure. Sämtlichen Substraten ist nur die Anwesenheit von leicht beweglichem Wasserstoff im Molekül gemein, woraus zu schließen ist, daß für das Zustandekommen der Phenolasereaktion nicht die chemische Zusammensetzung, nicht die Konfiguration, sondern lediglich die *chemische Funktion* (Wasserstoff von bestimmtem Potential) maßgebend ist.

Es gilt als allgemeine Regel, daß jedes Antigen die Bildung eines darauf eingestellten, spezifischen Antikörpers hervorruft. Dementsprechend dürfte die Phenolase, welche trotz verschiedener Herkunft stets die gleichen, nicht spezifischen Wirkungen aufweist, ein gegenüber

allen Phenolasepräparaten wirkendes, also nicht spezifisches Serum erzeugen. Letzteres dürfte auch auf das System Peroxydase + Hydroperoxyd den gleichen hemmenden Einfluß, wie auf die Phenolase, ausüben. Gegen alles Erwarten fanden wir aber schon bei der ersten Probe, daß das in der ersten Mitteilung beschriebene, durch Einspritzen von Phenolase aus *Lactarius vellereus* erhaltene, antiphenolatische Immunserum sich gegenüber Peroxydase aus Meerrettig + Hydroperoxyd in gepufferter Lösung als völlig wirkungslos erwies. Es ist hier zum ersten Male ein Unterschied zwischen den Systemen Phenolase + Sauerstoff und Peroxydase + Hydroperoxyd festgestellt worden. Noch auffallender war die Beobachtung, daß dasselbe antiphenolatische Serum auf Phenolase anderer Herkunft (aus *Russula delica*) *nicht die mindeste hemmende Wirkung entfaltete*. Bei der Wichtigkeit der hier in Betracht kommenden Fragen, schien es uns von Interesse, die unerwartete Spezifität der antiphenolatischen Sera näher kennenzulernen.

Mehrere Kaninchen wurden mit klar filtriertem phenolasehaltigen Russulasaft immunisiert. Nach etwa sechs Injektionen zeigte das Serum der Versuchstiere mehr oder weniger ausgesprochene antiphenolatische Eigenschaften gegenüber der Russulaphenolase. Gleichzeitig wurden Kaninchen mit Lactariusssaft unter gleichen Bedingungen immunisiert. Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Durch passende Verdünnung mit Wasser wurden Lösungen gleicher Aktivität aus Lactariusphenolase, Russulaphenolase und Cochlearia-peroxydase hergestellt. Mit jedem Oxydationsagens wurden vier Proben angestellt: 1. Ohne Zusatz, 2. mit Normalserum, 3. mit Lactariusimmunserum und 4. mit Russulaimmunserum. 1 ccm 0,1proz. Guajakollösung, 2 ccm Pufferlösung (n/10 Essigsäure-Natriumacetatgemisch 1:8), 1 ccm Fermentlösung, 1 ccm auf das Zehnfache verdünntes Serum, im Falle der Peroxydase noch 1 ccm 0,1proz. Hydroperoxyd wurden mit Wasser auf 10 ccm gebracht, und nach Verlauf von 30 Minuten wurde das oxydierte Guajakol kolorimetrisch im *Autenriethschen* Apparat mittels eines kalibrierten Keiles bestimmt. Dabei wurden folgende Zahlen erhalten:

Oxydiertes Guajakol in Milligrammen.

	Ohne Serum	Normalserum	Lactarius- immunserum	Russula- immunserum
Lactariusphenolase .	0,179	0,169	0,072	0,158
Russulaphenolase . .	0,171	0,147	0,166	0,083
Peroxydase + H ₂ O ₂ .	0,199	0,213	0,210	0,210

Während also die Wirkung der Russulaphenolase durch das Russulaimmunserum etwa auf die Hälfte herabgesetzt wird, ist letzteres auf die Lactariusphenolase ohne wesentlichen Einfluß; umgekehrt, ist das Lactariusimmunserum gegenüber der Russulaphenolase wirkungs-

los. Beide Immunseren üben auf das System Peroxydase + Hydroperoxyd nicht die mindeste hemmende Wirkung aus.

Noch deutlicher traten diese Verhältnisse hervor bei einem vergleichenden Versuche mit drei *Lactarius*immunseren und vier *Russula*immunseren. Die außerordentlich wirksamen *Lactarius*immunseren wurden durch längere Immunisierung mit der entsprechenden Phenolase erhalten.

Oxydiertes Guajakol in Milligrammen.

	Normalserum	Lactariusimmunsera			Russulaimmunsera			
Lactariusphenolase .	0,128	0,015	0,021	0,011	0,120	0,120	0,117	0,128
Russulaphenolase .	0,132	0,132	0,132	0,128	0,097	0,077	0,050	0,085

Die spezifische Hemmung der Immunsera wurde auch bei der Oxydation des Pyrogallols festgestellt.

Da beim Zusammenbringen von Pyrogallol mit serumhaltigen Reaktionsflüssigkeiten Eiweißniederschläge entstehen, die auf die nachträgliche Bestimmung des Purpurogallins störend wirken, wurde die früher angegebene Methodik folgenderweise abgeändert:

1 ccm 10proz. Pyrogallollösung, 1 ccm Phenolaselösung, 0,2 ccm Serum und 2 ccm Pufferlösung mit Wasser auf 10 ccm gebracht, wurden in Erlenmeyerkölbchen im Thermostaten bei 37° 3 Stunden aufbewahrt, das Gemisch wurde nach Abkühlen durch ein gehärtetes Filter filtriert, der Rückstand im Kölbchen mittels Eiswasser auf dasselbe Filter gebracht, der gesamte Niederschlag mit Eiswasser gewaschen und dann das im Niederschlag enthaltene Purpurogallin mit Alkohol, Äther-Alkohol und schließlich mit reinem Äther quantitativ ausgezogen. Die vereinigten alkohol-ätherischen Lösungen wurden im Meßkolben mit Alkohol auf 25 ccm gebracht und der Purpurogallingehalt in zweifacher Weise bestimmt: In 5 ccm wurde das Purpurogallin mit Hilfe des *Autenrieth'schen* Kolorimeters bestimmt, wobei ein mit alkohol-ätherischer Purpurogallinlösung gefüllter, kalibrierter Keil angewandt wurde. Andererseits wurden 10 bis 20 ccm Purpurogallinlösung zur Trockne abgedampft, der erhaltene Rückstand in konzentrierter H_2SO_4 gelöst, mit Wasser verdünnt und mit n/10 Kaliumpermanganatlösung titriert. Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

	Lactariusphenolase		Russulaphenolase	
	ccm n/10 K Mn O ₄	mg Purpurogallin kolorimetrisch	ccm n/10 K Mn O ₄	mg Purpurogallin kolorimetrisch
Normalserum	4,5	1,65	5,0	1,62
Lactariusimmunserum .	0,7	0,41	4,75	1,6
Russulaimmunserum . .	5,5	1,8	3,5	0,95

Die durch verschiedene Phenolasepräparate erzeugten Immunsera verhalten sich somit auch bei der Oxydation des Pyrogallols streng spezifisch.

Immunisierung mit durch Hitze inaktivierten Phenolasepräparaten.

Um festzustellen, ob die Wirksamkeit der Phenolasepräparate für den Erfolg der Immunisierung von Bedeutung ist, wurden Versuche mit durch Kochen inaktivierten Säften angestellt.

Ein Kaninchen (Nr. 5) erhielt 16 Injektionen von inaktivem Lactarius-saft, ein anderes (Nr. 16) neun Injektionen von inaktivem Russulasaft. Die Versuche wurden mit Guajakol, wie oben, ausgeführt.

Oxydiertes Guajakol in Milligrammen.

	Ohne Serum	Normalserum	Lactariusimmunserum (Nr. 5)
Lactariusphenolase .	0,185	0,171	0,174
Russulaphenolase . .	0,183	0,171	Russula-Immunserum (Nr. 16) 0,170

Inaktivierte Säfte sind also nicht imstande, bei intravenösem Einführen dem Serum antiphenolatische Eigenschaften zu erteilen.

Da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, daß wir es hier mit individuell refraktären Tieren zu tun hatten, behandelten wir sie nunmehr mit den entsprechenden aktiven Säften. Schon nach der vierten Injektion zeigte das Serum eine deutliche Hemmungswirkung, welche bei weiterer Behandlung beträchtlich anstieg.

Oxydiertes Guajakol in Milligrammen.

	Ohne Serum	Normalserum	Serum des Kaninchens Nr. 5
Lactariusphenolase .	0,210	0,177	nach 4 Injektionen 0,141
	0,245	0,208	nach 6 Injektionen 0,119
Russulaphenolase . .	0,147	0,141	Serum des Kaninchens Nr. 16 nach 4 Injektionen 0,097
	0,139	0,127	nach 6 Injektionen 0,075

Im Zusammenhang mit diesem negativen Erfolg sei hier erwähnt, daß es Briot (3) gelungen ist, mit inaktiviertem Lab ein die Labwirkung hemmendes Serum zu erzeugen. Allerdings war die hemmende Wirkung dieses Immunserums schwächer als die eines Immunserums, welches durch Immunisierung mit aktivem Lab gewonnen war.

Abhängigkeit der Hemmung von der Dauer der Einwirkung des Immunserums auf die Phenolaselösung.

Einige Antigene werden durch die entsprechenden Antikörper sehr schnell, andere aber mehr oder weniger langsam gebunden. In letzterem Falle beobachtet man, daß je länger die Einwirkung des Antikörpers auf das Antigen dauert, desto mehr Antigen gebunden

wird. Ähnliches findet auch bei der Einwirkung eines antiphenolatischen Serums auf die entsprechende Phenolase statt.

Die Versuche wurden mit Lactariusimmunserum und Lactariusphenolase ausgeführt.

Oxydiertes Guajakol in Milligrammen.

Dauer der vorangehenden Einwirkung in Stunden	Normalserum	Immunserum
0	0,155	0,075
2	0,155	0,069
4	0,160	0,060

Das Danisz-Phänomen.

Bei einigen, aber nicht bei allen, Antigenen läßt sich das sogenannte *Danisz-Phänomen* beobachten. Fügt man einem gewissen Quantum des Antiserums gleiche Mengen des entsprechenden Antigens in einer Probe auf einmal, in einer anderen dagegen in mehreren Portionen zu, so binden im zweiten Falle die ersten zugesetzten Portionen verhältnismäßig mehr Antikörper als die weiteren, so daß zuletzt dieses Gemisch mehr freies Antigen enthält, als dasjenige, wo die ganze Antigenmenge auf einmal zugesetzt wurde. Entsprechende Versuche wurden mit Lactariusimmunserum angestellt.

1. Fraktionierter Zusatz des Ferments.

Oxydiertes Guajakol in Milligrammen.

		Serum + Ferment vier Stunden aufbewahrt	Ferment in vier Portionen, mit ein- stündigen Intervallen zugesetzt	Serum + Ferment direkt vor dem Versuch vermischt
Ohne Serum 0,270	Normalserum .	0,245	—	0,248
	Immunserum .	0,163	0,169	0,174

2. Fraktionierter Zusatz des Immunserums.

		Serum + Ferment vier Stunden aufbewahrt	Serum in vier Portionen, mit ein- stündigen Intervallen zugesetzt	Serum + Ferment direkt vor dem Versuch vermischt
Ohne Serum 0,183	Normalserum .	0,181	0,183	0,183
	Immunserum .	0,075	0,081	0,089

Weder in der einen, noch in der anderen Versuchsanordnung läßt sich irgendwelcher Einfluß des fraktionierten Zusatzes der Ingredienzien nachweisen. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Proben hängen ausschließlich von der längeren Einwirkungsdauer des Immunserums auf das Ferment ab.

Besprechung der bisher erhaltenen Resultate und weitere Aussichten.

Die Tatsache, daß Phenolasen verschiedener Herkunft spezifisch wirkende, antiphenolatische Immunsera erzeugen, läßt sich in zweifacher Weise erklären:

1. Man kann annehmen, daß, *trotz der Identität ihrer chemischen Wirkungen, Phenolasen verschiedener Herkunft in ihrer Zusammensetzung oder Struktur sich voneinander unterscheiden und spezifische Antigene darstellen.* Mit anderen Worten, die Phenolasen seien in enzymologischer Hinsicht als nicht spezifische, in serologischer Hinsicht dagegen als spezifische Agenzien aufzufassen. Eine solche Artspezifität ist nicht unmöglich, aber wenig wahrscheinlich. Bei der Mannigfaltigkeit der Phenolasereaktionen müßte wohl einem Unterschied in der Zusammensetzung auch ein Unterschied in den chemischen Wirkungen entsprechen, was bisher nicht beobachtet worden ist.

2. Viel besser lassen sich sämtliche auf das Gebiet bezügliche Tatsachen durch die Annahme erklären, daß *nicht die Phenolase als solche, sondern die mit ihr assoziierten, eiweißartigen Begleitstoffe als Antigene fungieren.*

Für diese Annahme spricht in erster Linie die Tatsache, daß nach den bisher gemachten Erfahrungen nur Proteine und ihnen nahestehende Körper imstande sind, entsprechende Immunsera hervorzubringen. Zu derartigen Körpern gehört aber die Phenolase, wie auch viele andere Fermente, nicht.

Die Annahme, daß die Spezifität der antiphenolatischen Sera durch die Artspezifität der Begleitstoffe verschiedener Herkunft bedingt sei, ist viel plausibler, als die Annahme, daß die Phenolase serologische Spezifität bei enzymologischer Nichtspezifität besitze. Die Antieigenschaften des Immunserrums würden sich demnach nicht gegen die Phenolase als solche, sondern gegen die antigenen Begleitstoffe richten. Indem letztere in irgend einer Weise verändert werden (wahrscheinlich durch Ausflocken), ziehen sie auch die Phenolase in Mitleidenschaft, wodurch spezifische antiphenolatische Eigenschaften des Immunserrums vorgetäuscht werden. Daß die durch Hitze inaktivierten Lactarius- und Russulasäfte keine antiphenolatischen Immunsera erzeugen, kann nicht ohne weiteres gegen diese Annahme eingewandt werden, da bekanntlich bei der Hitzedenaturierung der Eiweißstoffe ihre antigenen Eigenschaften gewissermaßen verändert werden. Es könnte sich in unserem Falle nicht um die Inaktivierung der Phenolase handeln, sondern um die Denaturierung der Begleitstoffe.

Möglicherweise liegen auch bei anderen sogenannten Antifermenten und Antitoxinen ähnliche Verhältnisse vor.

Freilich wird durch obige Annahme das Problem der spezifischen Immunisation verschoben, nicht gelöst. Sie ist aber einer aussichtsvollen experimentellen Bearbeitung zugänglich.

Zusammenfassung.

1. Das Serum mit phenolasehaltigem *Lactarius*saft immunisierter Kaninchen erwies sich gegenüber der Russulaphenolase als unwirksam und vice versa. Sowohl *Lactarius*- wie auch *Russula*antisera üben auf das System Peroxydase (aus Meerrettig) + H_2O_2 nicht den mindesten hemmenden Einfluß aus.

2. Die spezifische Wirkung der antiphenolatischen Immunsera läßt sich sowohl bei Versuchen mit Guajakol, wie auch mit Pyrogallol feststellen.

3. Die Immunisierung mit durch Kochen inaktivierten Phenolasepräparaten ergab ein negatives Resultat; dieselben Versuchstiere lieferten bei nachträglicher Immunisierung mit aktiven Säften spezifisch wirkende Antisera.

4. Die Dauer der Einwirkung des Immunserrums auf die entsprechende Phenolase ist in der Hinsicht von Bedeutung, daß bei längerer Einwirkung mehr Phenolase gebunden wird.

5. Das *Danisz*-Phänomen läßt sich bei den antiphenolatischen Seren nicht beobachten.

6. Die Spezifität der Wirkung des Antiphenolaseserums kann erklärt werden: 1. durch eine Verschiedenheit in der Zusammensetzung oder Struktur von Phenolasen verschiedener Herkunft; oder aber 2. dadurch, daß nicht die Phenolase als solche, sondern die mit ihr assoziierten, eiweißartigen Begleitstoffe als Antigene fungieren. Letztere Annahme ist wahrscheinlicher und gestattet eine experimentelle Nachprüfung.

Literatur.

1) Bach und Engelhardt, diese Zeitschr. 185, 39, 1923. — 2) Bach, Sbarsky und Nikolajeff, ebendasselbst 185, 32, 1923. — 3) Briot, C. r. Soc. Biol. 76, 153, 1914.

Über die Wirkung der Antiphenolase in adsorbiertem Zustande.

Von

W. Engelhardt.

(Aus dem biochemischen Institut des Kommissariats für Volksgesundheit in Moskau.)

(Eingegangen am 4. April 1924.)

Die Frage nach dem Verhalten verschiedener Antikörper gegenüber gewissen adsorbierenden Substanzen ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen geworden. Diese Arbeiten verliefen in drei Richtungen: 1. Die Gewinnung der Antikörper in reinerem Zustande auf dem Wege einer elektiven Adsorption und nachträglicher Elution (Aronson (1)). 2. Unterscheidung der normalen Antikörper von den immunisatorisch erzeugten auf Grund ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Adsorbentien [Andrejeff (2), Landsteiner und Stankovic (3)]. 3. Feststellung des elektrochemischen Charakters bzw. der Ladung der Antikörper [Zunz (4), Biltz, Much und Siebert (5)].

Merkwürdigerweise wurde in keinem Falle untersucht, wie der Antikörper in adsorbiertem Zustande sich gegenüber dem entsprechenden Antigen verhält, d. i. ob er seine Fähigkeit, mit dem Antigen zu reagieren, dabei verliert oder nicht. Erst in allerletzter Zeit, als die vorliegende Arbeit beinahe beendet war, erschien die Abhandlung von M. Eisler (6), in welcher die Reaktion zwischen Vibriohämolysin, Diphtherie- und Tetanustoxin und den entsprechenden Antitoxinen in adsorbiertem Zustande untersucht wurde. Als Adsorbens wurde Tierkohle angewandt. Die Resultate dieser Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Es werden alle drei untersuchten Antitoxine durch Kohle adsorbiert. In adsorbiertem Zustande verlieren sie vollständig die Fähigkeit, das entsprechende Toxin zu neutralisieren. Bei dem an Kohle adsorbierten Vibriolysin bleibt die Fähigkeit, mit dem entsprechenden Antitoxin zu reagieren, unverändert. Gleichfalls behält Pferdeserum, auch nachdem es an Kohle adsorbiert worden ist, die Fähigkeit, Präzipitin zu binden. Diphtherie- und Tetanus-

toxin verlieren dagegen bei der Adsorption die Fähigkeit, mit den entsprechenden Antitoxinen zu reagieren.

Im Anschluß an frühere Untersuchungen über antiphenolatische Immunsera (*Bach* und *Engelhardt*, 7, 8) schien es mir von Interesse, zu untersuchen, wie sich das Antiferment in adsorbiertem Zustande gegenüber der Phenolase verhalten wird.

Methodik.

Sämtliche Versuche wurden mit phenolasehaltigem Saft der *Lactarius Vellereus*-Pilze durchgeführt. Die Methodik der Immunisierung wurde bereits in der oben erwähnten Arbeit von *Bach* und *Engelhardt* beschrieben. Die antiphenolatische Wirkung wurde an der Oxydation des Guajakols quantitativ verfolgt. Sämtliche Versuche wurden unter Pufferzusatz (2 ccm eines Gemisches von 1 Teil n/10 Essigsäure und 8 Teilen n/10 Natriumacetat) durchgeführt.

Als Adsorbentien wurden angewandt: kolloidales Eisenhydroxyd, Tonerde (positive Adsorbentien), Kaolin (negatives Adsorbens) und drei Kohlesorten (Knochenkohle, Blutkohle und Rohrzuckerkohle).

Das kolloidale Eisenhydroxyd wurde als 0,5 proz. Lösung eines Handelspräparates, Ferrum oxydatum dialysatum in lamellis, angewandt. Die Lösung gab nicht die geringste Trübung mit AgNO_3 und keine Reaktionen auf Fe^{++} und Fe^{+++} . Wurde die Lösung durch Elektrolytenzusatz koaguliert und abzentrifugiert, so gab das klare Zentrifugat eine ausgesprochene Reaktion auf Chlor.

Die Tonerde wurde auf folgende Weise hergestellt: 7,0 g AlCl_3 (*Kahlbaum*) wurden in 25 ccm Wasser gelöst, auf einmal mit 25 ccm starker NH_4OH -Lösung versetzt und kräftig durchgeschüttelt. Der Niederschlag wurde an der Zentrifuge sorgfältig ausgewaschen, bis die Waschflüssigkeit milchig trübe blieb und auf Lackmus neutral reagierte. Der so gewonnene Rückstand wurde in Wasser suspendiert und auf 50 ccm mit Wasser aufgefüllt. Diese Stammsuspension enthielt 3,7 Proz. Trockensubstanz und bildete, mit Wasser verdünnt, eine äußerst feine, sich langsam absetzende Suspension.

Das käufliche Kaolin wurde nach gründlichem Auswaschen mit destilliertem Wasser angewandt.

Die drei Kohlesorten waren von der Firma *Kahlbaum* bezogen. Es wurden Versuche mit drei verschiedenen Sorten angestellt, da bekanntlich zwischen einzelnen Kohlesorten recht bedeutende Unterschiede in bezug auf ihr Adsorptionsvermögen bestehen.

Für die Versuche wurden obige Adsorbentien als Suspension von bekannter Konzentration angewandt. 1 ccm Suspension wurde mit 1 ccm Fermentlösung zusammengebracht und 15 Minuten unter öfterem Umschütteln stehen gelassen. Dann wurde zentrifugiert und in einem

aliquoten Teile des Abgusses die Menge des nicht gebundenen Ferments bestimmt.

Sämtliche oben erwähnte Substanzen, in reinem Zustande der Phenolase zugesetzt, adsorbieren das Ferment ganz bedeutend. Digeriert man sie aber zuerst mit Serum (normalem), so büßen sie ihr Adsorptionsvermögen gegenüber der Phenolase sehr stark ein, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist:

Tabelle I.
Oxydiertes Guajakol in mg.

Adsorbens	Fe (OH) ₃			Al (OH) ₃	Kaolin	
	5	15	50	1	10	50
Menge des angewandten Adsorbens in mg						
Adsorbens, unvorbehandelt . . .	0,082	0	0	0,059	0,047	0
„ mit Serum digeriert	0,160	0,152	0,113	0,166	0,108	0,099

Das Digerieren der Adsorbenzen mit Serum wurde folgendermaßen durchgeführt: 0,1 ccm Serum (1 ccm einer Verdünnung mit destilliertem Wasser 1:10), 1 ccm der oben erwähnten Pufferlösung und 1 ccm der Adsorbenssuspension wurden zusammengebracht und unter öfterem Umschütteln 15 Minuten stehen gelassen. Nach scharfem Zentrifugieren wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen, das Sediment in 10 ccm Wasser aufgeschwemmt und abermals zentrifugiert, um das freie, nicht adsorbierte Serum zu entfernen. Das Waschwasser wurde abgegossen, das Sediment in 1 ccm Wasser suspendiert und mit 1 ccm der Fermentlösung versetzt.

Die Resultate dieser Versuche sind dahin zu deuten, daß die angewandten Adsorbenzen beim Digerieren mit Serum aus letzterem eine Reihe Substanzen, in erster Linie Proteine, adsorbieren, wodurch die adsorbierende Oberfläche so verändert wird, daß die nachträgliche Adsorption der Phenolase nicht eintritt.

Adsorption des Antiferments und die Wirkung desselben in adsorbiertem Zustande.

Behandelt man Immunserum mit den beschriebenen Adsorbenzen, so büßt das Serum in mehr oder weniger bedeutendem Maße seine antifermentativen Eigenschaften ein. Bei Anwendung der Metallhydroxyde und des Kaolins gelingt es, das Antiferment quantitativ aus der Lösung zu entfernen. Mit Kohle gelang dies nicht, sogar so große Mengen, wie 0,3 g Kohle pro 0,1 ccm Serum genügen noch nicht, um alles Antiferment zu binden, größere Mengen anzuwenden, ist aber unmöglich, weil das Volumen des Sedimentes im Verhältnis zum Serumvolumen zu groß wird.

Das Aufheben der antifermentativen Eigenschaften des Immunserums ist dadurch bedingt, daß unter anderen Bestandteilen des

Serums auch derjenige Anteil adsorbiert wird, welchem die antifermentative Funktion zukommt. Doch geht die Fähigkeit dieses Anteils, das Ferment zu binden, im adsorbierten Zustande keineswegs verloren. Dies geht aus der nachstehenden Tabelle mit voller Klarheit hervor. Die Sera (1 ccm einer Verdünnung 1 : 10) wurden, wie oben beschrieben, mit den Adsorbentien in Gegenwart von 1 ccm Pufferlösung 15 Minuten digeriert. Nach Zentrifugieren wurde der Abguß, das einmal nachgewaschene Sediment und die entsprechende Menge (0,1 ccm) des ursprünglichen Serums mit je 1 ccm der Phenolaselösung versetzt und 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Sediment abzentrifugiert und überall das freigebliebene Ferment bestimmt.

Tabelle II.

Oxydiertes Guajakol in mg.

Adsorbens	Fe(OH) ₃	Al(OH) ₃	Kaolin	Zucker- kohle	Blut- kohle	Knochen- kohle
Menge des angewandten Adsorbens, mg	5	4	100	100	100	100
Norm. Serum, unvorbehandelt	0,144	0,176	0,184	0,164	0,164	0,170
Norm. Serum, mit Adsorbens digeriert	0,139	0,164	0,152	0,160	0,164	0,166
Adsorbens, mit norm. Serum digeriert	0,110	0,128	0,164	0,148	0,120	0,145
Immunserum, unvorbehandelt	0,053	0,061	0,042	0,020	0,020	0,045
Immunserum, mit Adsorbens digeriert	0,110	0,128	0,148	0,038	0,042	0,058
Adsorbens, mit Immunserum digeriert	0,044	0,026	0,085	0,132	0,097	0,126

Wir sehen somit, daß sämtliche untersuchte Adsorbentien sich als fähig erwiesen, das im Immunserum vorhandene Antiferment zu binden. Das Antiferment behält auch in adsorbiertem Zustande seine Fähigkeit, mit dem entsprechenden Ferment zu reagieren. Es sei bemerkt, daß das Antiferment sowohl durch elektropositive, wie auch durch elektronegative Adsorbentien und auch durch die elektroneutrale Kohle (zwar in geringerem Maße) adsorbiert werden kann. Was die [H'] betrifft, bei welcher die Adsorption am besten vor sich geht, so wurden darüber nur einige orientierende Versuche angestellt. Es erwies sich, daß schwach saure Reaktion die Adsorption begünstigt. Deshalb wurde stets unter Zusatz eines Acetatpuffers von [H'] $2,5 \times 10^{-6}$ gearbeitet. Vielleicht könnte man für jedes Adsorbens eine besonders günstige [H'] auffinden, doch kann man im allgemeinen sagen, daß, solange man nicht ins alkalische Gebiet überschreitet, der Einfluß der [H'] nicht allzu groß ist.

Es ist kaum anzunehmen, daß die Adsorption des Antifermentes eine elektive sei. Es wird eine ganze Reihe verschiedener Substanzen

adsorbiert, und darunter auch diejenigen, welche dem Immunserum seine antifermentativen Eigenschaften verleihen. Ob gerade diese Substanzen in größerem Maße adsorbiert werden als die übrigen, bleibt noch ungeklärt. Diese Frage kam auch nicht in der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung. Es sei nur beigehend bemerkt, daß auch nach vollständigem Entfernen des Antifermentes durch Adsorption im Abgusse stets ganz beträchtliche Mengen Eiweiß nachzuweisen waren.

Betrachtet man näher die Zahlen der Tabelle II, so kann man bemerken, daß das durch $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ und Kohle adsorbierte Antiferment seine Bindungsfähigkeit gegenüber der Phenolase quantitativ behält. Bei der Adsorption des Antifermentes an Kaolin büßt das Antiferment etwas an seiner Bindungsfähigkeit ein.

Es konnte in der vorliegenden Arbeit kein direkter Beweis dafür gegeben werden, daß beim Zusatz der Fermentlösung zum Komplex „Adsorbens + Immunserum“ keine Verdrängung oder Elution des Antifermentes stattfindet. Es ist dies schon wegen der geringen Reversibilität der Proteinadsorption sehr wenig wahrscheinlich. Gegen die Annahme einer Verdrängung oder Elution sprechen auch folgende Befunde: Digeriert man das Komplex „Adsorbens + Immunserum“ mit durch Hitze inaktiviertem Lactariussaft, so tritt weder Verdrängung noch Elution auf. Ferner, wenn man das Adsorbat mit einer aktiven Phenolaselösung aus anderen Pilzen (z. B. in unserem Falle aus *Russula delicata*) digeriert, so ist auch keine Elution oder Verdrängung zu bemerken.

Es wurde anfangs beabsichtigt, zu untersuchen, ob auch das Ferment, nachdem es an irgendwelcher Substanz adsorbiert worden ist, die Fähigkeit behält, mit dem entsprechenden Antiferment zu reagieren. Es gelang aber vorläufig nicht, diese Frage zu entscheiden, weil das Serum (normales) das Ferment aus den Adsorbaten verdrängt. Es wäre somit unmöglich, zu entscheiden, ob der adsorbierte, oder der in Lösung gegangene Anteil des Fermentes mit dem Antiferment reagiere. Vielleicht gelingt es später solche Bedingungen aufzufinden, unter welchen eine Verdrängung des Fermentes nicht stattfindet.

Was die Bedeutung der hier angeführten Versuche im allgemeinen betrifft, so kann man folgendes sagen: 1. Es läßt sich eine Reaktionsbindung des Antigens mit dem Antikörper, die bisher in einem homogenen oder höchstens mikroheterogenen System bekannt war, in einem heterogenen System feststellen. Dies könnte gewisse Vorzüge beim Studium der Reaktion bieten. 2. Die Bestimmung des nicht gebundenen Fermentes wird durchgeführt in Abwesenheit jeglicher fremdartigen Beimengungen, welche beim direkten Zusatz des Serums eingetragen werden, wodurch Fehler vermieden werden. 3. Es ist die Möglichkeit gegeben, den Antikörper in adsorbiertem Zustande der Einwirkung

verschiedener Reagenzien auszusetzen. Es kann dann das Adsorbat abzentrifugiert und nachgewaschen werden, so daß die angewandten Reagenzien weder bei der Reaktion zwischen Antigen und Antikörper, noch während der Bestimmung der nicht gebundenen Menge des Antigens zugegen bleiben und somit den Verlauf der Versuche nicht beeinflussen. Man kann erwarten, daß es auf diesem Wege gelingt, gewisse Aufschlüsse über den Charakter der Antikörper zu gewinnen.

4. Es kann diese Methodik helfen, die Frage zu entscheiden, ob die Bindung des Antigens mit dem Antikörper den Charakter einer chemischen „Neutralisierung“ besitzt, oder dagegen einen Adsorptionsprozeß vorstellt. In dieser Richtung sind mit anderen Fermenten Versuche angestellt.

Zusammenfassung.

1. Behandelt man antiphenolatisches Immunserum mit geeigneten Mengen von kolloidalem Eisenhydroxyd, Aluminiumhydroxyd, Kaolin oder Kohle, so wird das Antiferment, zusammen mit den Proteinen des Serums, durch die genannten Substanzen adsorbiert.

2. Die Adsorption ist nicht, oder nur schwer reversibel; das Lactarius-Antiferment wird aus den Adsorbaten weder durch inaktivierten Lactariussaft, noch durch aktiven Russulasaft eluiert bzw. verdrängt.

3. Im adsorbierten Zustande behält das Antiferment seine spezifische Bindungsfähigkeit gegenüber der entsprechenden Phenolase.

4. In Adsorbaten mit $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_3$ und Kohle bleibt das Bindungsvermögen quantitativ erhalten; in den Kaolinadsorbaten ist dieses Vermögen etwas herabgesetzt.

5. Es wird auf die Bedeutung der Versuche für die Erforschung gewisser Fragen der Immunität hingewiesen.

Literatur.

- 1) Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1898, 625; 1894, 453. — 2) Andrejeff, Arbeiten aus d. kaiserl. Gesundheitsamt 33, 84, 1910. — 3) Landsteiner und Stankovic, Centralbl. f. Bact. 41, 108, 1906. — 4) Zunz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 19, 326, 1913. — 5) Biltz, Much und Siebert, Beitr. z. exper. Therapie, 1905, Heft 10. — 6) Eisler, diese Zeitschr. 135, 416, 1923. — 7) Bach und Engelhardt, ebendasselbst 135, 39, 1923. — 8) Dieselben, vorstehende Mitteilung.

Über die Fermentzahlen des Blutes.

II. Mitteilung:

Schwankungen der Katalase- und Proteasezahlen während 24 Stunden bei Tieren und Menschen.

Von

E. Iwanitzky-Wassilenko und A. Bach.

(Eingegangen am 4. April 1924.)

A. Bach und S. Zubkova¹⁾ erwähnen in der I. Mitteilung über die Fermentzahlen des Blutes, daß bei anscheinend gesunden Menschen die Katalasezahl zwischen 14 und 18 schwankt, bei jedem Individuum aber ziemlich beständig ist, indem die Abweichungen vom Mittelwert etwa ± 10 Proz. betragen. Die quantitative Bestimmung der Katalase, wie sie von den Verfassern ausgeführt wird, ist so einfach und genau, daß der Versuchsfehler kaum 1 Proz. erreichen kann. Man muß daher annehmen, daß die beobachteten Schwankungen der Katalasezahl wirklichen, mit dem jeweiligen Zustande des Organismus verknüpften Veränderungen der Fermentwirkung entsprechen. Um Aufschlüsse über diesen Gegenstand zu gewinnen, versuchten wir, die Katalase- und Proteasezahlen während 24 Stunden bei Tieren und Menschen jede Stunde zu bestimmen. Im nachstehenden sind die erhaltenen Ergebnisse mitgeteilt.

Versuche an Kaninchen.

Die Bestimmungen wurden an sechs Kaninchen nach der in der I. Mitteilung beschriebenen Methode ausgeführt, wobei die erforderlichen Blutproben der Ohrvene entnommen wurden. Die Tiere wurden 12 Stunden vor den Versuchen und die Hälfte der Versuchsdauer ohne Futter belassen. Nach der zwölften Blutentnahme erhielten sie die übliche Ration an gekochtem Hafer und Heu. Die Versuchsergebnisse sind in nachstehender Tabelle angeführt.

Aus Tabelle I geht hervor, daß die Fermentzahlen als für jedes Individuum charakteristische *Mittelwerte* aufzufassen sind. Um

¹⁾ Diese Zeitschr. 125, 283, 1921.

Tabelle I.

Stündliche Katalase- und Proteasezahlen im 24stündigen Versuch.

Zeit der Blutentnahme	1		2		3		4		5		6	
	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.
8 Uhr	15,5	1,4	16,0	0,4	15,5	1,0	13,8	1,1	17,8	0,9	14,8	1,2
9 "	14,7	1,4	16,0	1,3	15,2	0,8	13,8	1,4	17,8	1,1	14,6	1,6
10 "	14,3	1,3	16,2	0,9	14,9	0,3	13,8	1,6	17,8	1,4	14,9	1,9
11 "	11,9	1,0	15,5	0	13,2	0,7	14,1	1,1	18,5	0,9	14,9	1,2
12 "	13,5	1,0	14,7	0,8	14,3	0,5	14,1	1,8	18,8	1,7	12,0	0
13 "	11,8	1,0	15,3	0,8	14,2	0,9	12,6	1,6	18,8	1,0	16,3	1,6
14 "	14,0	1,5	15,2	0,6	13,7	0,7	13,7	0,9	18,1	1,2	16,0	1,7
15 "	12,7	0,6	13,0	0,9	13,8	0,9	14,9	1,2	15,8	1,3	15,9	1,1
16 "	13,9	1,3	15,5	1,5	14,4	0,8	14,3	1,4	18,7	0,9	14,9	1,3
17 "	14,6	1,4	12,9	0	14,1	0,5	14,6	1,0	19,1	0,9	16,0	1,4
18 "	12,8	0,9	13,8	2,2	14,9	1,9	13,8	1,4	18,4	1,0	16,1	1,8
19 "	14,3	1,3	15,0	0,9	15,3	1,2	14,9	0,9	18,4	0,7	16,4	1,4
20 "	12,7	1,2	11,6	1,0	14,8	0,9	13,8	1,4	18,2	1,4	16,5	1,3
21 "	10,1	0,8	14,4	0,9	14,7	1,1	15,5	1,3	17,9	1,9	16,0	1,4
22 "	9,5	1,2	14,4	0,9	14,6	1,1	12,4	1,5	17,8	1,4	14,2	1,4
23 "	10,8	1,4	14,5	1,3	15,1	0,9	12,6	1,4	17,6	1,4	15,6	1,4
24 "	11,6	1,4	15,5	0,8	15,3	1,4	13,0	1,3	17,9	0,8	14,2	1,4
1 "	14,9	1,2	14,8	0,6	14,2	0,4	11,8	0,9	17,0	1,4	15,5	1,6
2 "	15,0	2,0	12,6	0,7	14,6	1,1	13,3	1,1	17,7	1,0	15,4	1,0
3 "	9,3	0	11,5	1,0	14,6	0,8	13,2	1,5	17,3	1,2	14,2	1,9
4 "	10,5	0	9,3	0	13,2	0	13,4	2,0	14,1	1,1	13,9	1,3
5 "	14,4	1,4	11,0	0,9	14,6	1,6	9,9	1,5	15,5	0,9	10,9	0,9
6 "	12,9	1,2	15,4	1,2	15,3	1,2	11,6	0,5	15,8	1,3	15,4	1,5
7 "	13,4	1,3	12,5	1,2	15,5	1,1	12,2	1,2	15,3	0,8	11,8	1,1
Mittelwerte	12,9	1,1	14,0	0,9	14,6	0,9	13,4	1,3	17,5	1,1	14,9	1,3
Maxim. Abweichungen in Proz.	+20	+72	+10	+16	+6	+116	+15	+53	+7	+63	+11	+40
	-27	-100	-33	-100	-10	-100	-26	-100	-19	-40	-26	-100

diese Mittelwerte schwanken die jeweilig beobachteten Zahlen in ebenfalls charakteristischer Weise für jedes Individuum. Dabei sind die Schwankungen der Proteasezahlen beträchtlich höher als die der Katalasezahlen. Bei vier Kaninchen wurde sogar zu gewissen Zeiten das vollkommene Fehlen der Protease beobachtet. Irgendwelche Gesetzmäßigkeiten konnten hier nicht festgestellt werden, und über die Ursachen der Schwankungen sind wir noch völlig im Dunkeln.

Versuche an Katzen.

Die Versuche wurden in ähnlicher Weise wie an Kaninchen ausgeführt. Nur die Blutentnahme geschah an der Schwanzspitze und wurde von den zahmen Versuchstieren ohne Unbehagen vertragen.

Die maximalen Abweichungen vom Mittelwert, welche bei den Versuchen an Katzen beobachtet worden sind, erreichen + 17 Proz. und - 18 Proz. für die Katalasezahl und + 50 Proz. und - 70 Proz. für die Proteasezahl.

Tabelle II.
Stündliche Katalase- und Proteasezahlen.

Zeit der Blutentnahme	1		2		3		4		5		6	
	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.	K.-Z.	P.-Z.
8 Uhr	12,7	1,0	13,9	0,9	14,0	0,5	13,3	0,9	9,0	0,7	12,3	1,7
9 "	12,9	1,5	13,4	1,5	15,2	1,8	12,5	1,4	8,3	0,9	10,0	1,3
10 "	13,0	1,4	14,3	1,9	15,0	1,7	12,0	1,6	9,3	1,3	10,1	1,5
11 "	12,6	1,1	13,2	2,0	15,0	2,2	12,0	1,5	8,0	1,1	10,7	1,0
12 "	11,7	1,4	13,9	1,7	15,4	1,5	12,5	1,1	9,4	1,1	9,9	1,5
13 "	12,4	1,5	13,8	1,5	15,9	1,8	12,6	1,3	10,1	1,3	12,3	1,4
14 "	13,2	1,5	14,9	1,9	17,9	1,5	12,3	1,4	10,5	1,5	11,0	1,1
15 "	12,3	1,5	14,0	0,8	16,9	2,4	13,8	0,9	9,0	0,9	11,7	1,7
16 "	14,0	2,0	14,5	1,8	16,0	2,0	12,7	1,4	9,9	1,2	11,0	1,3
17 "	12,9	1,5	14,0	1,5	16,9	1,5	13,0	2,0	9,6	1,7	10,4	1,6
18 "	13,4	1,6	15,0	1,7	17,2	1,7	12,8	2,3	9,0	1,2	12,4	1,8
19 "	13,3	1,5	15,0	1,5	16,3	1,5	11,6	2,1	8,2	1,8	10,9	2,0
20 "	14,5	1,0	14,5	1,1	16,9	1,7	11,8	2,0	10,3	1,5	11,6	1,9
21 "	12,0	1,5	14,9	1,3	17,6	1,3	13,3	1,8	9,9	1,4	11,7	1,8
22 "	14,2	1,5	14,0	1,9	17,0	1,9	14,1	2,0	11,1	1,9	12,5	2,1
23 "	15,5	1,7	17,2	2,0	18,5	1,9	13,3	1,5	9,8	1,2	11,6	1,5
24 "	13,6	2,0	15,0	1,5	18,0	1,9	13,3	1,6	9,9	1,2	9,9	1,2
1 "	14,6	1,7	16,0	1,5	17,3	1,8	12,9	1,9	9,8	1,4	10,8	1,4
2 "	14,5	1,9	15,0	0,6	18,4	1,6	11,8	1,7	10,0	1,4	11,6	1,5
3 "	15,0	2,2	15,4	2,0	17,0	1,6	13,8	1,2	10,4	1,5	11,5	1,1
4 "	14,5	2,0	16,2	1,3	18,8	1,9	13,0	0,9	10,5	1,4	12,1	1,2
5 "	15,0	1,6	15,9	2,0	18,6	1,8	13,0	1,4	9,0	1,0	11,0	1,5
6 "	14,7	2,1	15,9	1,7	17,7	1,9	13,9	1,5	9,8	1,2	12,4	1,5
7 "	16,0	1,7	15,7	1,5	18,9	2,0	13,8	1,6	10,4	1,1	12,4	1,6
Mittelwerte	13,7	1,6	14,8	1,5	16,9	1,7	12,9	1,5	9,6	1,3	11,3	1,5
Maxim. Abweichungen in Proz.	+ 17	+ 38	+ 16	+ 31	+ 12	+ 38	+ 9	+ 49	+ 15	+ 46	+ 10	+ 41
	- 14	- 36	- 18	- 61	- 18	- 70	- 10	- 45	- 16	- 46	- 13	- 32

Versuche an Menschen.

Es wurden fünf Versuche an Menschen ausgeführt: ein 24stündiger und ein 8stündiger Selbstversuch (*Iwanitzky-Wassilenko*) und drei 8stündige Versuche an Mitarbeitern des Instituts (Tabelle III).

Die stündlichen Schwankungen der Katalasezahlen sind also beim Menschen nicht wesentlich höher als bei der Katze, die Schwankungen der Proteasezahlen sind dagegen etwa zweimal so groß.

Auf Grund der angeführten Versuche ist als feststehend anzusehen, daß die stündlichen Katalase- und Proteasezahlen bei anscheinend normalen Tieren und Menschen Schwankungen aufweisen, welche sicherlich außerhalb der Versuchsfehler liegen und Änderungen des physiologischen Zustandes des Organismus entsprechen. Dies mag als Warnung gegen die frühzeitige und rücksichtslose Anwendung der Fermentzahlenmethode für klinische Zwecke gelten. Von medizinischer Seite sind Arbeiten mitgeteilt worden, in welchen aus wenigen Beobachtungen an Kranken weitgehende Schlußfolgerungen betreffend die Änderung

Tabelle III.

Stündliche Katalase- und Proteasezahlen im 24stündigen Selbstversuch.

Zeit	K.Z.	P.Z.	Zeit	K.Z.	P.Z.
8 Uhr . .	15,9	1,0	20 Uhr . .	13,5	1,8
9 " . .	16,5	1,0	21 " . .	14,1	1,6
10 " . .	15,5	1,3	22 " . .	14,1	1,1
11 " . .	15,0	2,2	23 " . .	15,0	1,2
12 " . .	14,6	1,2	24 " . .	14,2	1,8
13 " . .	15,0	0,8	1 " . .	14,1	1,5
14 " . .	14,5	1,3	2 " . .	13,5	0,9
15 " . .	14,5	0,9	3 " . .	15,0	0,9
16 " . .	15,0	1,2	4 " . .	14,0	0,9
17 " . .	14,0	0,8	5 " . .	14,1	1,0
18 " . .	14,0	1,3	6 " . .	14,4	0,8
19 " . .	13,3	2,5	7 " . .	16,4	0,6

Mittelwerte für 24 Stdn. 14,6 1,2

Maximale Abweichungen in Proz. . . .	+ 13	+ 107
	- 9	- 51

Tabelle IV. Stündliche Schwankungen der Katalase- und Proteasezahlen im achtstündigen Versuch.

Zeit	Dr. E.		Dr. S.		Dr. G.		Dr. I. W.	
	K.Z.	P.Z.	K.Z.	P.Z.	K.Z.	P.Z.	K.Z.	P.Z.
10 Uhr . .	18,8	1,1	18,9	1,0	17,5	1,6	17,3	1,5
11 " . .	18,5	1,4	18,6	0,9	16,0	1,4	17,3	0,9
12 " . .	19,0	1,2	19,3	1,0	18,0	1,7	17,0	1,6
1 " . .	19,0	1,0	18,0	1,7	16,5	1,2	17,2	1,2
2 " . .	17,8	2,1	17,5	2,2	16,6	2,9	16,9	2,2
3 " . .	18,9	1,5	18,4	1,5	16,1	2,2	16,0	2,1
4 " . .	19,2	1,5	18,6	1,7	15,2	1,5	15,3	1,7
5 " . .	19,0	2,0	18,4	2,1	16,0	1,0	17,2	1,5
Mittelwerte . .	18,8	1,5	18,4	1,5	16,5	1,7	16,7	1,6
Maximale Abweichungen in Proz.	+ 2,6	+ 43	+ 4,0	+ 45	+ 9,0	+ 72	+ 3,4	+ 40
	- 5,0	- 31	- 5,0	- 44	- 8,0	- 39	- 8,7	- 40

der Fermentzahlen in verschiedenen pathologischen Fällen (Thyphus, Malaria, Tuberkulose) gezogen werden. Solange wir über den Umfang und die Ursachen der physiologischen Schwankungen der Fermentzahlen nichts Bestimmtes wissen, bedeuten derartige klinische Arbeiten lediglich Zeitvergeudung und Überschwemmung der betreffenden Literatur mit wertlosen Materialien.

Zum Schluß noch einige Worte betreffend die zuerst von *Waenting* und *Steche* vorgeschlagene und von *Bach* und *Zubkowa* verwertete Methode zum Messen der Proteasewirkung an der Abnahme der Katalasewirkung. Diese indirekte Methode ist dem Einwand zugänglich, daß die durch Temperaturerhöhung bewirkte Abnahme der Katalasewirkung der Steigerung der Empfindlichkeit und der Unbeständigkeit der Katalase an und für sich, und nicht der Beschleunigung der Protease-

wirkung zuzuschreiben sei. Sollte erstere Annahme zutreffen, so dürften bei einem und demselben Versuchsobjekt gleichen Katalasezahlen gleiche Abnahmen der Katalasewirkung infolge Temperaturerhöhung entsprechen. Dies ist aber nicht der Fall, wie aus unseren in nachstehender Tabelle zusammengestellten Beobachtungszahlen hervorgeht.

Versuchsobjekte	Zeit der Blutentnahme	Katalasezahl	Proteasezahl
Kaninchen Nr. 4, Tab. I	4 Uhr	14,11	1,10
" " "	5 "	14,11	1,78
" Nr. 6, "	3 "	14,87	1,87
" " "	4 "	14,87	1,19
Katze Nr. 2, Tab. II	8 "	13,94	0,76
" " "	10 "	13,94	1,53
" Nr. 3, "	6 "	16,66	0,68
" " "	7 "	16,66	2,29
" Nr. 4, "	21 "	13,00	0,93
" " "	22 "	13,00	1,44
" Nr. 5, "	6 "	9,52	1,19
" " "	7 "	9,52	0,68
Dr. G., Tab. IV	4 "	16,49	1,19
" "	5 "	16,66	2,89
Dr. I.-W. "	4 "	17,17	1,19
" "	5 "	16,91	2,21

Es ist kaum denkbar, daß die Katalase eines und desselben Blutes in so kurzen Zeitintervallen und unter sonst gleichen Bedingungen in ungleicher Weise in ihrer Haltbarkeit verändert werde. Die Annahme, daß hier die Protease des Blutes ins Spiel kommt, ist viel einfacher und plausibler.

Zusammenfassung.

Die Katalase- und Proteasezahlen des Blutes von Kaninchen, Katze und Mensch wurden während 24 Stunden stündlich gemessen. In ähnlicher Weise wurde ein 8stündiger Versuch an vier Menschen ausgeführt.

Die jeweiligen Katalase- und Proteasezahlen schwanken um einen Mittelwert, welcher für jedes Individuum charakteristisch ist. Die Schwankungen der Katalasezahlen betragen bei Kaninchen $\frac{+33}{-10}$ Proz., bei Katzen $\frac{+18}{-10}$ Proz., bei Menschen $\frac{+9}{-9}$ Proz. der entsprechenden Mittelwerte. Die Schwankungen der Proteasezahlen sind viel höher und erreichen zumal ± 100 Proz. der Mittelwerte.

Die Verfasser warnen gegen die frühzeitige und rücksichtslose Anwendung der Fermentzahlenmethode für klinische Zwecke, solange man noch nichts Bestimmtes über den Umfang und die Ursachen dieser *physiologischen* Schwankungen weiß.

Über die Fermentzahlen des Blutes.

III. Mitteilung:

Die Katalasezahl des Blutes thyreidektomierter Ziegen.

Von

A. Bach und E. Cheraskowa.

(Aus dem biochemischen Institut und dem Karpow-Institut für Chemie in Moskau.)

(Eingegangen am 4. April 1924.)

Die Gelegenheit bot sich uns dar, einige orientierende Versuche über die Fermentzahlen des Blutes thyreidektomierter Ziegen auszuführen. Die Tiere gehörten einer „Farm für thyreidektomierte Ziegen“, welche verschiedenen Heilanstalten in Moskau „therapeutisch wirksame“ Milch liefert. Fünf normale und sieben operierte Tiere wurden uns für die Untersuchung zur Verfügung gestellt. Schon die ersten Bestimmungen ergaben sowohl bei normalen, wie bei thyreidektomierten Ziegen auffallend niedrige Werte. Wir verdoppelten die Blutkonzentration (also 1 : 500 anstatt 1 : 1000), aber auch dann wurden so geringe Peroxydase-, Protease- und Esterasezahlen erhalten, daß sie nicht als zuverlässig angesehen werden konnten. Wir beschränkten

Katalasezahlen.

Versuche	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7
	Normale Ziegen					Thyreidektomierte Ziegen						
1	3,60	3,60	8,37	8,87	3,46	4,46	6,19	6,13	2,84	4,02	9,97	5,28
2	3,95	4,02	8,20	8,87	3,35	4,10	7,79	5,52	2,75	4,19	8,56	6,19
3	3,49	4,10	7,79	8,62	2,84	3,95	6,02	5,01	2,68	3,85	9,79	6,36
4	3,68	3,49	7,20	8,60	3,01	3,93	5,36	4,10	3,01	4,27	10,10	6,19
5	3,68	4,85	8,12	7,70	3,62	5,19	5,27	4,46	2,76	3,68	10,04	6,19
6	4,35	4,85	7,20	8,68	2,67	4,59	6,86	4,52	2,27	3,16	7,23	4,77
7	4,35	3,95	—	7,95	3,68	4,69	5,02	—	2,34	3,68	7,03	3,68
8	4,10	3,95	7,70	8,70	3,85	5,02	6,03	4,69	2,85	4,86	8,12	3,28
9	4,35	3,35	—	7,53	3,68	4,52	6,13	4,19	2,93	3,89	9,71	6,01
10	3,90	3,51	7,68	7,87	3,18	4,10	5,86	4,69	2,85	3,68	9,71	5,19
Mittelwerte :	3,95	3,99	7,78	8,11	3,33	4,45	6,05	4,81	2,75	3,92	9,18	5,31

uns daher auf die Bestimmung der Katalasezahlen, wobei die Versuche täglich an sämtlichen Tieren während 10 Tage nach der früher beschriebenen Methode ausgeführt wurden. In vorstehender Tabelle sind die erhaltenen Zahlen angebracht.

Aus obiger Tabelle ergibt sich, daß in bezug auf die Katalasezahl thyreoidektomierte Ziegen sich nicht mehr von normalen unterscheiden, als letztere untereinander. Die Thyreoidektomie scheint auf die Katalasezahl ohne Einfluß zu sein.

Über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Fermentbildung in keimenden Pflanzensamen.

Von

A. Oparin und A. Bach.

(Aus dem biochemischen Institut des Kommissariats für Volksgesundheit in Moskau.)

(Eingegangen am 4. April 1924.)

Die Tatsache, daß die Neubildung von Fermenten in keimenden Pflanzensamen nur bei Sauerstoffzutritt stattfindet¹⁾, läßt zwei Erklärungsweisen zu: 1. der Sauerstoff ist insofern für die Fermentbildung unentbehrlich, als bei Sauerstoffabschluß keine Zellvermehrung und daher auch indirekt keine Neubildung von Fermenten zustande kommen kann; 2. der Sauerstoff beteiligt sich direkt an der Neubildung von Fermenten, indem letztere durch Oxydation irgend einer Vorstufe entstehen. Um Aufschlüsse über diesen Gegenstand zu gewinnen, stellten wir Versuche mit *getöteten* Pflanzenmaterialien an.

Daß in Pflanzenmaterialien, welche keine lebenden Zellen enthalten, eine Zunahme der Peroxydasemenge sich nachweisen läßt, wurde bereits von *Lubimenko*²⁾ und *Palladin*³⁾ beobachtet. Ersterer fand eine Zunahme der Peroxydasemenge im Preßsaft von reifen Tomaten beim Stehenlassen unter antiseptischen Bedingungen. Seinen Befund erklärt er durch die Annahme, daß durch den Antiseptikumszusatz eine den Oxydationsprozeß hemmende „Antiperoxydase“ zerstört werde. Eine ähnliche Beobachtung wurde von *Palladin* mit narkotisierten oder durch Erfrierenlassen getöteten Pflanzensamen gemacht. Seiner Ansicht nach wird hier die Zunahme der Fermentmenge durch autolytische Prozesse, bei welchen gebundene Peroxydase freigesetzt wird, verursacht. Die Beteiligung des Sauerstoffs an der

¹⁾ Diese Zeitschr. **184**, 190, 1922.

²⁾ Akad. Wissensch. Petrograd **33**, 122, 1916.

³⁾ Jahrb. Wiss. Bot. **47**, 431.

Zunahme der Fermentmenge wurde von keinem der genannten Forscher in Betracht gezogen.

Unsere Versuche wurden folgenderweise ausgeführt:

Weizensamen wurden der Keimung unterworfen und, wie in der oben zitierten Mitteilung von A. Bach und A. Oparin angegeben, weiter verarbeitet. Jede Probe, welche das Mehl von Keimlingen bestimmten Alters darstellte, wurde in drei Portionen geteilt. Eine abgewogene Menge der ersten Portion wurde auf einem Uhrglas mit reinem Calciumcarbonat, Wasser und Toluol vermischt (auf 1 g Mehl 0,5 g Calciumcarbonat, 4 ccm Wasser, 1 ccm Toluol), die erhaltene Paste wurde auf dem Uhrglas in dünner Schicht ausgebreitet und in einen Kalilauge und Toluol enthaltenden Exsikkator bei Luftzutritt gestellt. Das zum Verreiben und Ausbreiten des Materials benutzte Glasstäbchen wurde auf dem Uhrglas belassen. Eine abgewogene Menge der zweiten Portion wurde unter gleichen Bedingungen in Stickstoffatmosphäre aufbewahrt. Die dritte Portion wurde im ursprünglichen Zustande zum Kontrollversuch angewandt. Nach Verlauf von 48 Stunden wurden die Proben mit Wasser quantitativ in Meßkolben gebracht, wobei die abgewogene Kontrollprobe direkt im gleichen Volumen Wasser aufgeschwemmt wurde, die Aufschwemmungen wurden noch 2 Stunden stehengelassen, filtriert, und in den Filtraten wurden Katalase, Peroxydase, Amylase und Protease nach der früher beschriebenen Methode bestimmt. Die in nachstehender Tabelle angeführten Zahlen sind auf 100 mg Gesamtstickstoff bezogen.

Alter d. Keimlinge in Tagen	Katalase			Peroxydase			Amylase			Protease		
	Kon-trolle	Stick-stoff	Sauer-stoff	Kon-trolle	Stick-stoff	Sauer-stoff	Kon-trolle	Stick-stoff	Sauer-stoff	Kon-trolle	Stick-stoff	Sauer-stoff
	ccm n/10 K Mn O ₄									ccm n/10 H ₂ SO ₄		
0	210	185	125	90	110	126	4,5	4,6	4,7	2,0	2,0	2,5
1	185	115	90	92	111	127	4,5	4,6	4,8	2,5	2,5	3,0
2	900	370	230	120	143	182	7,0	7,2	7,7	7,0	7,5	9,5
3	1675	695	430	175	220	286	12,5	13,5	14,8	13,5	14,5	18,5
4	1995	1440	755	319	371	384	36,0	40,5	47,3	25,0	26,5	34,0
6	2410	1670	610	592	633	675	69,5	96,5	104,0	71,0	75,0	80,0
7	2505	1565	470	755	775	732	109,0	114,0	113,1	98,5	101,5	99,0

Aus obigen Zahlen ergibt sich, 1. daß der Gehalt der Proben an Peroxydase, Amylase und Protease schon beim Aufbewahren in Stickstoffatmosphäre zunimmt, was in Übereinstimmung mit der erwähnten Annahme *Palladins* durch das Entbinden von aktiven Fermenten infolge autolytischer Prozesse erklärt werden kann; 2. daß in Anwesenheit von Sauerstoff eine weitere Zunahme des Fermentgehaltes in den jüngeren Keimmaterialien stattfindet, bei dem 8 Tage alten

Keimmaterial bleibt die Neubildung von Fermenten aus; und 3. daß der Katalasegehalt schon bei der Autolyse in Stickstoffatmosphäre etwa um $\frac{1}{2}$ abnimmt, in Sauerstoffatmosphäre sinkt er weiter zu etwa $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen. Da bei den eingehaltenen Versuchsbedingungen eine Schädigung der Katalase durch bei der Autolyse entstehende Säuren ausgeschlossen war, so bleibt die gesteigerte Zerstörung des Fermentes bei Sauerstoffzutritt vorläufig unerklärt.

Während der früheren Keimungsstadien bilden sich also in den Weizensamen Stoffe, welche durch den Sauerstoff in aktive Fermente verwandelt werden. In der Absicht, diesen Oxydationsprozeß und die Neubildung von Fermenten zu beschleunigen, unterzogen wir der Oxydation an der Anode aus gekeimten Samen dargestellte wässrige Suspensionen und Extrakte. Wir verfahren dabei folgendermaßen:

Die zu untersuchenden Suspensionen bzw. Extrakte wurden in eine Tonzelle, welche in einem Becherglas mit destilliertem Wasser tauchte und als Anodenraum diente, gegeben. Als Anode wurde ein Platindrahtnetz 6×7 cm, als Kathode eine Platindrahtspirale benutzt. Die Stromstärke betrug 4 Volt und 7 Milliamp., das Oxydationspotential in üblicher Weise an der Anode gemessen, 0,469 Volt. Letzteres entsprach also etwa demjenigen des Eisenchlorids. Versuchsdauer $\frac{1}{2}$ bis 4 Stunden.

Bei derartigen Versuchen hat man zwei Faktoren zu berücksichtigen, welche beträchtliche Fehler herbeiführen können: das stetige Sauerwerden der Flüssigkeit im Anodenraum infolge oxydativer Umwandlung des Materials und die stetige Zunahme der Konzentration der Anodenflüssigkeit infolge der Elektroosmose von Wasser aus der Tonzelle. Dem ersteren Übelstand wurde dadurch vorgebeugt, daß die Anodenflüssigkeit von vornherein mit Calciumcarbonat vermengt oder vor der Bestimmung der Fermente mit Natriumcarbonat neutralisiert wurde, wobei in beiden Fällen die Bestimmungen in gepufferten Lösungen ausgeführt wurden. Dem Wasseraustritt aus dem Anodenraum wurde durch Messen der Zunahme des Volumens der Kathodenflüssigkeit Rechenschaft getragen.

Eine Versuchsreihe wurde mit dem Mehl von 3 Tagen alten Weizenkeimlingen angestellt. Das abgewogene Mehl wurde mit Wasser verrieben (10 ccm Wasser auf je 1 g Mehl), der dünne Brei wurde 1 Stunde lang stehengelassen und dann der Oxydation an der Anode unterworfen. Zu bestimmten Zeiten wurden aus dem Anodenraum Proben herausgenommen und auf ihren Fermentgehalt untersucht. In einer parallelen Versuchsreihe wurde der Brei 12 Stunden lang unter Toluolzusatz stehengelassen, filtriert und das klare Filtrat anodisch oxydiert. Die erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Fermentmengen auf 100 mg Gesamtstickstoff bezogen.

Dauer der Oxydation in Stunden	Katalase		Peroxydase		Amylase		Protease
	Brei	Extrakt	Brei	Extrakt	Brei	Extrakt	Brei
	ccm n/10 K Mn O ₄						ccm n/10 H ₂ S O ₄
0	1660	850	180	204	12,5	10,0	13,5
0,5	1825	885	188	213	13,0	10,2	14,5
1	1440	690	198	222	13,5	10,4	15,5
1,5	1080	550	207	231	14,1	10,7	16,0
2	765	—	219	—	14,7	—	16,0
2,5	505	275	232	256	14,3	11,5	15,5
3,5	—	70	—	268	—	11,3	—
4,5	—	0	—	248	—	11,0	—

Wie aus obigen Zahlen zu ersehen ist, nimmt am Beginn der anodischen Oxydation der Gehalt der Materialien an Fermenten, auch an Katalase, zu. Nach Verlauf von einer Zeit, die für verschiedene Fermente verschieden ist, erreicht der Fermentgehalt ein Maximum und nimmt dann wieder ab. Dieses Verhalten deutet darauf hin, daß man es hier mit zwei gleichzeitig vor sich gehenden Prozessen zu tun hat: mit einer Neubildung von Fermenten aus irgend einer Vorstufe und einer Zerstörung von bereits gebildeten Fermenten. Der jeweilige Fermentgehalt der Materialien gestaltet sich also als die Resultierende dieser entgegengesetzten Prozesse.

Da Fermente als Proteinabkömmlinge im weiteren Sinne gelten, versuchten wir zu ermitteln, ob bei der anodischen Oxydation abgebauter Proteinstoffe fermentartige Körper entstehen würden. Orientierende Versuche wurden mit *Fibrin aus Pflanzen (Kahlbaum)* angestellt.

Das fein gepulverte, in Wasser unlösliche Fibrin (5 g) wurde mit käuflichem Trypsin (0,5 g) und Natriumcarbonat (0,5 g) in 500 ccm Wasser suspendiert und unter Toluolzusatz 3 Tage im Thermostaten bei 37° aufbewahrt. Die Reaktionsflüssigkeit wurde dann durch Zentrifugieren von Unlöslichem getrennt und im Anodenraum der Oxydation unterworfen. Nach 1 Stunde langer Oxydation gab die Anodenflüssigkeit eine deutliche Reaktion auf Peroxydase, während der ursprüngliche Extrakt nicht die mindeste Peroxydasereaktion zeigte. Unter ähnlichen Bedingungen mit Eieralbumin und kristallisiertem Pflanzenglobulin ausgeführte Versuche ergaben dagegen in bezug auf die Peroxydasereaktion ein vollkommen negatives Resultat. Daraus konnte geschlossen werden, daß das Auftreten der Peroxydasereaktion in ersterem Falle nicht auf die Neubildung von Peroxydase aus dem abgebauten Fibrin, sondern auf die Präexistenz von zymogenen Substanzen im angewandten Material und ihre nachträgliche Umwandlung in aktive Peroxydase zurückzuführen war.

Zur näheren Aufklärung der Fermentbildung bei der Oxydation des mit Trypsin verdauten Pflanzenklebers wurden folgende Versuche angestellt: Aus Weizenmehl durch Auswaschen der Stärke in üblicher Weise dargestellter Kleber wurde auf kleine Kolben, die mit schwach alkalischen, toluolhaltigen Trypsinlösungen aufgefüllt waren, verteilt. Die Kolben wurden gut verkorkt und im Thermostaten bei 35° aufbewahrt. Am 2., 3. und 5. Tage wurden Proben der Versuchsflüssigkeiten in die Tonzelle gegeben und 1 Stunde lang an der Anode oxydiert. Der Strom wurde dann umgekehrt und die Versuchsflüssigkeit während 1 Stunde an der Kathode reduziert. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Strom wiederum umgekehrt und die Versuchsflüssigkeit noch 1 Stunde an der Anode behandelt. Die erhaltenen Resultate sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt. Die Zahlen sind auf 100 mg Gesamtstickstoff umgerechnete Mittelwerte aus mehreren Bestimmungen.

	Peroxydase			Amylase		
	ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung					
	a. 2. Tage	a. 3. Tage	a. 5. Tage	a. 2. Tage	a. 3. Tage	a. 5. Tage
Kontrollversuch	142,5	131,4	114,4	26,7	23,7	19,4
1 Stunde a. d. Anode .	203,6	221,1	153,8	40,5	41,0	30,6
1 Stunde a. d. Kathode	206,8	225,0	158,1	43,9	42,3	31,2
1 Stunde a. d. Anode .	228,3	256,5	181,2	44,0	48,1	34,4

Unter günstigen Verhältnissen werden also die Peroxydase- und Amylasemengen in verdautem Weizenkleber unter dem Einfluß der Oxydation verzweifacht.

Fassen wir die im obigen mitgeteilten Tatsachen zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. Im angefeuchteten Mehl von Weizenkeimlingen findet beim Aufbewahren während zweier Tage eine bedeutende Zunahme der Peroxydase-, Protease- und Amylasemengen bei Sauerstoffabschluß statt. Diese Zunahme ist durch den Austritt von aktiven Fermenten infolge der Autolyse des unlöslichen Materials verursacht.

2. In Anwesenheit von Sauerstoff wird eine weitere Zunahme der Fermentmengen beobachtet.

3. Bei der Autolyse, in Abwesenheit von Sauerstoff, nimmt der Katalasegehalt des Materials stets ab. Sauerstoffzutritt beschleunigt die Abnahme.

4. Bei der Oxydation des Mehles und der Extrakte von Weizenkeimlingen an der Anode nimmt anfänglich der Gehalt an allen untersuchten Fermenten (auch an Katalase) zu, erreicht ein Maximum und sinkt dann wieder.

5. Bei der Verdauung von Pflanzenfibrin mit Trypsin und nachträglicher Oxydation an der Anode erscheint in der Lösung Peroxydase, die im ursprünglichen Material nicht nachweisbar war. Mit Eialbumin und kristallisiertem Pflanzenglobulin ausgeführte analoge Versuche ergaben negative Resultate.

6. Die Zunahme der Peroxydase- und Amylasemengen in verdautem Weizenkleber unter dem Einfluß der Oxydation an der Anode erreicht unter günstigen Verhältnissen etwa 100 Proz. des ursprünglichen Gehaltes.

Stickstoffumsatz bei einseitiger Ernährung. I.

Von

Boris A. Lawrow (Moskau).

aus dem tierphysiologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen
Hochschule des Polytechnikums zu Iwanowo-Wosnessensk, Rußland.)

(Eingegangen am 2. April 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Man kann heute schon als unbedingt sicher annehmen, daß die Nahrungsstoffe nicht nur als Energiequelle auftreten, sondern daß auch ihre qualitative Zusammensetzung — die mineralische sowie die organische — für den Organismus bei weitem nicht gleichgültig ist. Jedoch das Wesentliche des qualitativen Einflusses verschiedener organischer Komponenten der Nahrung aufzuklären, ist bis jetzt noch eine ungelöste Aufgabe, da die tierische Nahrung eine sehr komplizierte Mischung von verschiedenen Stoffen darstellt, deren Einteilung zurzeit nur einigermaßen annähernd festgestellt worden ist.

Besonders schwierig gestaltet sich die Frage des stickstoffhaltigen Teiles der Nahrung; die gebräuchliche Bestimmung der sogenannten reinen Eiweiße, Peptone und Amide, kann keine genaue Charakteristik des Ernährungsstoffes geben, da jeder von diesen Bestandteilen, besonders der erstgenannte, ein verwickelter Komplex verschieden kombinierter Varianten ist. Indessen ist es allbekannt, daß einförmige Nahrung, welche anfangs den Organismus völlig befriedigte und eine genügende im energetischen Sinne war, bei einem dauernden Konsum seitens des Organismus eine Reihe der verschiedensten Reaktionen hervorruft: Widerwillen gegen diese Nahrung oder eine allgemeine Appetitverminderung, Abmagerung, Stillstand des Wachstums usw. Die Ursache liegt augenscheinlich in dem für den Organismus unzulänglichen Werte der verabreichten Nahrungsmischung, da die letztere nur so lange den Organismus befriedigte, als derselbe seinen eigenen Vorrat einiger Stoffe von gewissem qualitativen Bestande in sich trug. Nach deren Verbrauch aber und dem dadurch entstandenen Mangel

an ihnen in der Nahrung hört diese bereits auf, den Organismus zu befriedigen, und es tritt die Erscheinung des partiellen Hungers auf. Der Grad der qualitativen Unvollwertigkeit einer Nahrung kann äußerst verschieden sein, und die Wirkungskraft einer solchen Nahrung variiert deswegen unter verschiedenen Umständen in großem Maßstabe. Die qualitative Unzulänglichkeit der wenn auch energetisch vollwertigen Nahrungsmittel ist sehr anschaulich durch die Einführung der Ernährungsmethode für Tiere mit den sogenannten „künstlichen“ Nahrungsstoffen gezeigt worden. (Von *Lunin* an bis zur neuesten Zeit.)

Im wesentlichen sind aber diese Stoffe tatsächlich nie „künstliche“ gewesen, da sie nie synthetisch erhalten wurden und sehr komplizierte¹⁾ Produkte blieben, die sich von den natürlichen, aus denen sie bereitet wurden, nicht nur durch gewisse Gleichartigkeit ihrer Zusammensetzung unterschieden, sondern auch durch jene Veränderungen (Denaturieren), welche die Einflüsse des Extrahierens, des Trocknens, der hohen Temperatur usw. auf den Ausgangsstoff hervorrufen. Dadurch wird aber dieser Ausgangsstoff nur wenig einfacher, obwohl einige Komponenten desselben während der Vorbereitung entfernt wurden: der übrigbleibende Teil ist in der Hauptsache eine noch nicht definierte Mischung von sehr komplizierter Zusammensetzung.

Aber außerdem können die Manipulationen, denen das Ausgangsmaterial unterworfen wird, an und für sich nicht immer genau die gleichen sein. Ein im ganzen gleicher Zubereitungsmodus des einen oder anderen Produktes aus ein und demselben natürlichen Material kann nämlich in Einzelheiten zu qualitativ und quantitativ verschiedenen Zusammensetzungen führen, je nach der Steigerung des intensiven Einflusses, welchen die Technik der Zubereitung des Produktes ausübt. Abgesehen von den Komplikationen, welche eine auf diese Weise denaturierte Nahrung hervorrufen kann, erfordert außerdem ihre Zubereitung einen beträchtlichen Aufwand an Zeit und Unkosten.

In der Absicht, den Einfluß, den die einseitige Ernährung auf den Stoffwechsel ausübt, zu untersuchen, hielt ich es für angebrachter, natürliches Futter oder solche Nahrungsprodukte, die gewöhnlich für den Markt bestimmt sind, zu gebrauchen.

Im einzelnen wollte ich die Wirkung, die eine einseitige Nahrung bei andauerndem Gebrauch auf den Stickstoffumsatz ausübt, ergründen und habe ein Huhn als Untersuchungsobjekt gewählt. Die vorliegende Arbeit, die als Vorarbeit zu betrachten ist, erscheint als erstes Glied einer Reihe von Untersuchungen in dieser Richtung.

¹⁾ Insoweit es sich um Eiweiße und Fette handelt.

Die allgemeine Methode der Erhaltung eines Versuchstieres.

Das Huhn, mit dem ich experimentierte, wurde in einem Drahtkäfig von 38.38.40 cm gehalten. In der Höhe des Türchens war auf zwei parallel liegenden Glasstäbchen ein Aluminiumplättchen befestigt, dessen Größe 15.15 cm betrug, und das dem Huhne erlaubte, ungehindert zu stehen und zu sitzen. Der Käfig hatte keinen Boden, sondern war auf ein emailliertes Eisenblech gestellt worden, in dem sich eine Lösung von $\frac{1}{2}$ - bis 1proz. Schwefelsäure befand, und wohinein die Exkremente des Huhnes fielen. Um Verluste durch Verspritzen zu vermeiden, waren die Wände des Käfigs von innen bis zu einer gewissen Höhe mit Glasscheiben bedeckt, welche auf dem Boden des Eisenblechs standen.

Das Futter wurde drei- oder viermal (je nach der Jahreszeit) *an bestimmten*, in Zusammenhang mit der Tagesordnung im Laboratorium gebrachten *Stunden* verabreicht. Das Futter wurde auf einer feinen (nicht analytischen) Wage in einer Kupferschale tariert und in dieser Schale in eine große Glasküvette gestellt, auf deren Rand der Vogel sich setzte. Den Rand der Schale ein wenig emporhebend, konnte man so die Körner in einen kompakten Haufen zusammenschütteln, um dem Vogel das Fressen zu erleichtern. Das Füttern geschah auf einem großen Tische, auf dessen einem Ende der Käfig stand; die übrige Tischfläche war mit Filtrierpapier bedeckt, welches am Rande des Tisches emporgebogen war, so daß das Huhn mit einer Art Barriere umgeben war, welche das Verstreuen des Futters verhütete. Nach Beendigung des Fütterns wurden alle auf dem Papier und in der Küvette verstreuten Körner sorgfältig in die Kupferschale zurückgeschüttet und so das übriggebliebene Futter bis zu einer Genauigkeit von 0,05 g auf derselben Wage abgewogen. Um automatisches Trinkwasser in den Käfig hineinzureichen, war ein kleines Schälchen, nicht ganz mit Wasser gefüllt, an den Käfig gefügt. Mit einer in das Schälchen getauchten Bürette konnte ich, je nach dem Niveau des Wassers in der letzteren, (ungefähr) die Quantität des ausgetrunkenen Wassers beurteilen. Der Vogel gewöhnte sich sehr schnell an seine Lage, fühlte sich wohl, kam selber aus dem Käfig hervor, um gefüttert zu werden und ging nachher freiwillig in denselben zurück.

Die Methode der Untersuchung des Stickstoffumsatzes.

Um die Wirkung der einseitigen Ernährung auf den Stickstoffumsatz zu untersuchen, wurde dem Huhne einförmiges Futter verabreicht, und zwar *ad libitum*, um auf diese Weise, die freiwillig zu sich genommene Nahrung in Betracht ziehend, zu versuchen, den Zusammenhang zwischen der einförmigen Diät und der Arbeit der Appetitregulatoren festzusetzen. Der Gehalt des totalen N im Futter und in den Exkrementen (Urin und Kot) wurde nach *Kjeldahl* bestimmt. In dieser Weise wurde die N-Bilanz ermittelt. Um den Fehler, der darin bestand, daß die Exkremente des Vogels unmöglich täglich gesondert werden konnten, abzuschwächen, wurden längere Perioden des Sammelns festgestellt, die auf 3, 4 und sogar 5 Tage kamen; bei längerer Dauer dieser regelmäßigen Reihenfolge der Zeiträume wurde die Abweichung der Beobachtungen in dieser Richtung hin vermindert. Aus dem Eisenblech, in das die Exkremente des Vogels fielen, wurden die festen Teile mittels eines Glaslöffels in eine Porzellantasse zum Trocknen gesammelt; die flüssigen Teile, sowie das Wasser, mit dem die Glasscheiben des Käfigs abgewaschen worden waren, wurden durch vorher abgewogenes Filtrierpapier durchgelassen, dann abgewogen, und nach Ermittlung des

spezifischen Gewichts wurde das Volumen festgestellt. Ein gewisser Teil der Flüssigkeit wurde in einem Glasgefäß mit eingeschliffenem Stöpsel zur Analyse aufbewahrt, nachdem 2 bis 3 Tropfen Chloroform hinzugefügt worden waren. Zum Verbrennen nahm man 20 bis 25 ccm.

Nach dem Trocknen der harten Bestandteile auf einem Wasserbade wurden dieselben noch in einem Schranke bis zu 105° getrocknet, abgewogen und allmählich in einer Kaffeemühle zu einem möglichst feinen Pulver zermahlen. Zu diesem Gewicht wurde das Gewicht des trockenen Restes, der nach dem Filtrieren der flüssigen Teile auf dem Filter zurückblieb, hinzugefügt. (Zu diesem Zwecke war das Filter getrocknet und abgewogen worden.) Zum Verbrennen wurden nach *Kjeldahl* 4 bis 1,5 g des trockenen Stoffes genommen. Der verbrannte Stoff wurde auf 300 bis 500 ccm verdünnt, aber zur NH_3 -Destillation, die zu Kontrollzwecken immer wiederholt geschah, wurden 50 bis 25 ccm genommen (je nach der Konzentration des N). Als Indikator wurde Rosolsäure gebraucht.

Der allgemeine Plan der Arbeit.

Die Beobachtungen wurden im akademischen Jahre 1922/23 im tierphysiologischen Laboratorium der landwirtschaftlichen Fakultät des Polytechnikums in Iwanowo-Wosnessensk ausgeführt. An der Arbeit nahmen auch meine Assistenten *A. I. Ochotnikowa*, *K. A. Lawrowsky* und Dr. *B. A. Minin* direkten Anteil.

Das von der Versuchsstation der Fakultät erhaltene Huhn war nicht sehr wohlgenährt und wog nur 1375 g. Als Futter wurde von uns Hafer verabreicht. Das Gewicht des Huhnes, welches anfangs stieg, fiel stark, und am Ende des 10. Tages wog das Huhn nur 1195 g. Während dieser Zeit legte das Huhn zwei Eier (à 40 g). Hierauf stieg das Gewicht des Huhnes, und nach Verlauf eines Monats erreichte es 1490 g, wobei das Huhn während der ganzen Zeit auf Haferdiät (ad libitum) gehalten wurde. Das Futter wurde vom Huhn schnell, gierig und in großer Quantität vertilgt. Nach Verlauf dieses ersten Monats gingen wir daran, das Verhältnis zwischen der Aufnahme und Abgabe des Stickstoffs festzustellen. Diese Untersuchung ging mit Unterbrechungen in fünf Perioden vor sich.

Tabelle I.

	Datum	Zahl der Tage
Periode I . .	15.—18. VIII. 1922	3
" II . .	22.—24. VIII. "	3
" III . .	25.—27. VIII. " *	3
" IV . .	29. VIII.—1. IX. 1922	4
" V . .	1.—4. X. 1922	4

* 28. VIII. Hungern und Sandbad.

Die Dauer der Haferdiät betrug 84 Tage (vom 13. Juli bis 4. Oktober).

Unmittelbar hierauf, vom 5. Oktober an, begann die zweite Reihe der Beobachtungen der ununterbrochenen Hirsediät (ebenfalls ad libitum). Wir zählten elf Hirsediätperioden (siehe Tabelle II).

Tabelle II.

	Datum	Zahl d. Tage		Datum	Zahl d. Tage
Periode I	5.—7. X. 1922	3	Periode VI	24.—27. X. 1922	4
" II	8.—11. X. "	4	" VII	28.—31. X. "	4
" III	12.—15. X. "	4	" VIII	1.—4. XI. "	4
" IV	16.—19. X. "	4	" IX	5.—8. XI. "	4
" V	20.—23. X. "	4	" X	30. I.—2. II. 1923	4
			" XI	3.—6. II. 1923	4

Die Dauer der Hirsediät betrug 125 Tage (vom 5. Oktober 1922 bis 6. Februar 1923).

Nach Verlauf der elften Periode der Hirsediät wurde dem Huhn enthülste Hirse gegeben. Solcher Perioden waren acht an Zahl (siehe Tabelle III).

Tabelle III.

	Datum	Zahl d. Tage		Datum	Zahl d. Tage
Periode I	7.—9. II 1923	3	Periode V	22.—24. II. 1923	3
" II	10.—13. II. "	3	" VI	25.—28. II. "	4
" III	14.—17. II. "	3 ^{1/6}	" VII	1.—3. III. "	3
" IV	17.—21. II. "	4 ^{5/6}	" VIII	4.—7. III. "	4

Die Dauer der enthülsten Hirsediät betrug 33 Tage (vom 7. Februar bis 11. März).

Vom 12. März an kehrt man zur Hirsediät mit vier Beobachtungsperioden (siehe Tabelle IV) zurück.

Tabelle IV.

	Datum	Zahl der Tage
Periode α . .	12.—14. III. 1923	3
" β . .	15.—17. III. "	3
" γ . .	18.—21. III. "	3
" δ . .	22.—24. III. "	3

Die Dauer der Hirsediät (das zweite Mal) betrug 13 Tage (vom 12. bis 24. März 1923).

I. Die Haferernährung.

Der Hafer wurde mir von der Maschinenbaustation unserer Fakultät zugestellt. Die Reinheit der Samen betrug 96 Proz.¹⁾ Der Stickstoffgehalt betrug nach unseren Untersuchungen im Durchschnitt 1,758 Proz. Die Dauer der ausschließlichen Haferernährung betrug 84 Tage (vom 13. Juli bis 4. Oktober 1922). Das Schwanken des Gewichtes des Huhnes während der Haferdiät ist auf Tabelle V angegeben, wo *das Anfangsgewicht, 1375 g, als 100 angenommen ist* (zur besseren Übersicht sind die Zahlen dieser Tabelle auch in der allgemeinen Graphik angeführt Abb. 2).

¹⁾ Protokoll des Katheders der angewandten Botanik (S. Klopov).

Tabelle V.

Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.
13. VII.	100,0	26. VII.	96,44	16. VIII.	107,6	31. VIII.	110,5
14. VII.	107,8	27. VII.	96,0	17. VIII.	108,7	1. IX.	110,3
15. VII. ¹⁾	107,3	v. 28. VII. bis 10. VIII.	—	18. VIII.	105,5	vom 2. bis 28. IX. Unterbrechung der Vogel frei gesetzt.	
16. VII.	102,5	Unterbrechung der Beobachtungen. Der Vogel frei gesetzt im Laboratoriumsraume.	—	19.—21. VIII.	—		
17. VII.	104,0	22. VIII.	103,6	23. VIII.	109,6	29. IX.	105,5
18. VII.	—	23. VIII.	111,3	24. VIII.	108,4	30. IX.	105,5
19. VII.	96,7	25. VIII.	108,4	26. VIII.	106,2	1. X.	103,8
20. VII.	98,2	11. VIII.	108,4	27. VIII.	107,6	2. X.	102,9
21. VII.	87,6	12. VIII.	97,8	28. VIII.	107,6	3. X.	102,9
22. VII.	89,45	13. VIII.	112,7	[29. VIII. ²⁾	117,4]	4. X.	101,8
23. VII.	86,9	14. VIII.	102,7	30. VIII.	110,5		
24. VII.	89,5	15. VIII.	101,0				
25. VII.	92,7						

Leider sind meine Beobachtungen über die Schwankungen des Gewichts hier nicht vollständig, da bedauerlicherweise eine Lücke entstand. Jedoch können wir annehmen, daß die Gewichtsabnahme nur von kurzer Dauer war und nicht über 7,3 Proz. stieg, und dieses auch nur im Anfang (das Huhn mauserte stark); meistens schwankte das Gewicht mehr in der Richtung der Zunahme und erreichte so bis 10 Proz. In den letzten Tagen der Haferdiät waren die Schwankungen sehr unbedeutend.

Da das Huhn das Futter ad libitum zu sich nahm, charakterisieren die Schwankungen der Quantität des zu sich genommenen Futters den Einfluß der einseitigen Nahrung auf die Erregbarkeit des Appetits. In dieser Hinsicht sind die periodischen Sprünge besonders ins Auge fallend, hauptsächlich stark im Anfang; gleich nach der Steigerung des Appetits folgt das Sinken desselben. Eine andere interessante Tatsache, die sich im Laufe der ganzen mehrtägigen Beobachtung zeigt, ist das allmähliche allgemeine Sinken des Appetits, das jedoch, was besonders wichtig ist, nicht zur Abnahme des Gewichtes führt. Die Kurve des letzteren nimmt eine andere Richtung, sie zeigt eine Tendenz zur Steigerung oder zur Festsetzung einer mehr oder weniger stabilen Einförmigkeit (vergleiche die Kurven von Ende August und Ende September), während der Appetit unausgesetzt in Abnahme begriffen ist. Besonders klar äußert sich das letztere bei dem Vergleich der Durchschnittsquantitäten der aufgenommenen Nahrung pro Tag und in jeder einzelnen Periode der Bilanzversuche (I bis V) (siehe Tabelle VI und die Graphik, Abb. 2).

Tabelle VI.

Periode	I	II	III	IV	V
Stickstoff im Futter g	1,99	1,74	(1,31) ³⁾	1,41	0,68

¹⁾ Wurde ein Ei von 40 g gelegt.

²⁾ Nach einem Sandbad (vielleicht ein Irrtum in der Aufzeichnung).

³⁾ Die Analyse der Ausscheidungen in der dritten Periode ist infolge der großen Masse von Steinen und Sand im Kot nicht genügend befriedigend ausgefallen. Ich konnte die Analyse zufälliger Ursachen wegen nicht wiederholen.

Die Stickstoffbilanz wurde schon nach Ablauf eines Monats der einseitigen Ernährung des Huhnes festgestellt, und hier sind keine schroffen Schwankungen bemerkt worden. In den ersten Perioden der Bilanzversuche (15. bis 18. August) sehen wir noch eine verhältnismäßig große Retention des Stickstoffs im Körper (17,4 Proz. des zu sich genommenen Futters), was erstens als eine Folge des vorhergehenden Hungerns erklärt werden kann, zweitens des eintretenden Sinkens des Appetits. Das Huhn war indessen nach Verlauf von drei Tagen dem Gleichgewicht schon sehr nahe (zweite Periode, N-Bilanz: + 0,35 Proz.), dem eine unbedeutende negative N-Bilanz (ungefähr 3 Proz. in der dritten Periode) folgte, und dieser folgte wiederum eine geringe positive N-Bilanz (+ 3,7 Proz. in der vierten Periode). Wiederum nach einem Monat finden wir das Huhn beinahe im Stickstoffgleichgewicht (— 1,7 Proz. in der fünften Periode, s. Abb. 2). *Daher befindet sich der Vogel bei beständiger Haferdiät im Stickstoffgleichgewicht, hierbei sein Gewicht für einige Zeit auf einer sich wenig verändernden Höhe haltend, während die Quantität der ad libitum aufgenommenen Nahrung unausgesetzt bis zu einem gewissen Minimum fällt.* Ich habe den Eindruck erhalten, daß der Organismus des Vogels zur Zeit des Anfangs meiner Beobachtungen gewisser Vorräte benötigte, und so wird die Unumgänglichkeit des Verbrauchs großer Quantitäten von Futter hervorgerufen. Auf diese Weise erhielt ich am Anfange meiner Beobachtungen die positive N-Bilanz. Später aber sättigte sich der Organismus wahrscheinlich an den für seinen Bedarf und seine Konstitution erforderlichen Stoffen; die Notwendigkeit eines großen Verbrauchs dieser Stoffe (so grob wie Hafer, und wahrscheinlich großen Aufwand bei der Verdauung fordernd) fiel weg und der Organismus begnügte sich mit der Nahrung als mit einem erhaltenden Futter, dieselbe auf ein Minimum reduzierend. Ich muß bemerken, daß das Mausern des Huhnes, das im Juli und August stattfand, im September aufhörte. Der 4. Oktober war der letzte Tag der Haferdiät und dem Huhne wurde nun Hirse gegeben.

II. Die Hirseernährung.

Die Hirse wurde mir von der Maschinenbaustation unserer Fakultät zugestellt. Der Stickstoffgehalt war meinen Beobachtungen nach im Durchschnitt = 1,7087 Proz. (erste Lieferung) und 1,6211 Proz. (zweite Lieferung). Die Dauer der Hirseernährung betrug 125 Tage (vom 5. Oktober 1922 bis 6. Februar 1923). Die Bilanzperioden waren 35 Tage am Anfang (vom 5. Oktober bis 8. November) und 8 Tage am Ende (vom 30. Januar bis 6. Februar). Die Schwankungen im Gewicht während dieser Zeit sind in Tabelle VII eingetragen, wobei zu beachten ist, daß das Anfangsgewicht (13. Juli) wieder als 100 angenommen ist.

In dieser Serie der Beobachtungen sind alle Gewichtsschwankungen mit großer Genauigkeit und ohne Unterbrechung protokolliert, nicht nur im Laufe der ersten 35 Tage (Bilanzexperimente), sondern auch während der nächsten 47 Tage. Aus der Tabelle sowie auch aus der Abb. 2 sehen wir deutlich, daß das Gewicht des Huhnes sich in nichts von den vorhergehenden Perioden unterscheidet; in den ersten vier Perioden haben wir durchschnittlich 105 Proz., in den letzten fünf bis 102,5 Proz. Augenscheinlich war die Ernährung des Organismus während dieser Zeit nicht auf Zurücklegung von Vorratsprodukten, wie z. B. Fette, gerichtet.

Weiter ist das Steigen des Appetits beim Futterwechsel außerordentlich auffallend: am ersten Tage nahm der Vogel $3\frac{1}{2}$ mal mehr zu sich als am

Tabelle VII.

Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.
a) Die Perioden der Bilanzbeobachtungen.							
5. X.	103,5	14. X.	106,1	23. X.	102,5	1. XI.	102,2
6. X.	108,4	15. X.	104,9	24. X.	102,9	2. XI.	102,6
7. X.	107,1	16. X.	104,7	25. X.	102,5	3. XI.	102,6
8. X.	105,1	17. X.	104,7	26. X.	102,1	4. XI.	103,1
9. X.	104,0	18. X.	102,7	27. X.	102,2	5. XI.	102,6
10. X.	105,4	19. X.	104,2	28. X.	101,5	6. XI.	103,5
11. X.	105,6	20. X.	103,0	29. X.	101,5	7. XI.	102,6
12. X.	106,0	21. X.	102,9	30. X.	100,9	8. XI.	103,9
13. X.	105,6	22. X.	102,2	31. X.	103,0		
b) Fortsetzung der Fütterung ohne Untersuchung der Stickstoffbilanz.							
9. XI.	103,1	21. XI.	106,6	3. XII.	107,1	15. XII.	107,6
10. XI.	103,5	22. XI.	105,7	4. XII. ¹⁾	106,6	16. XII.	107,7
11. XI.	103,7	23. XI.	106,6	5. XII.	107,4	17. XII.	108,2
12. XI.	103,2	24. XI.	106,9	6. XII.	106,4	18. XII.	108,3
13. XI.	103,8	25. XI.	106,6	7. XII.	106,5	19. XII.	108,5
14. XI.	104,3	26. XI.	105,4	8. XII.	107,0	20. XII.	108,2
15. XI.	104,5	27. XI.	104,2	9. XII.	107,6	21. XII.	108,5
16. XI.	104,3	28. XI.	106,6	10. XII.	106,1	22. XII.	107,7
17. XI.	104,5	29. XI.	106,5	11. XII.	106,1	23. XII.	108,4
18. XI.	105,4	30. XI.	107,3	12. XII.	107,2		
19. XI.	104,7	1. XII.	107,3	13. XII.	107,1		
20. XI.	105,7	2. XII.	108,1	14. XII.	107,2		
c) Fortsetzung der Fütterung mit Untersuchungen der Stickstoffbilanz.							
30. I.	115,0	1. II.	117,2	3. II.	117,8	5. II.	118,7
31. I.	115,6	2. II.	117,2	4. II.	118,5	6. II.	119,2

(Die Zahlen dieser Tabelle sind ebenfalls in der allgemeinen Graphik eingetragen, Abb. 2.)

vorhergehenden Tage, und um so viel mal mehr, als der Durchschnitt für einen Tag der ganzen vorhergehenden Haferfütterungsperiode des Bilanz-experiments betrug. Am zweiten Tage verminderte sich der Appetit (auf 25 Proz.) und am dritten Tage fiel er auf mehr als 50 Proz.

Wenn wir nun den Schwankungen in der Quantität der eingenommenen Nahrung von Tag zu Tag folgen, so sehen wir im Anfang hier, sowie auch in der vorhergehenden Serie der Hafernahrung, ziemlich große Sprünge und in derselben Reihenfolge, nämlich, daß nach dem Steigen des Appetits ein Fallen desselben erfolgt; aber auch hier, wie beim Hafer, werden die Schwankungen weniger scharf. Jedoch sind bei der Haferfütterung die ersten 35 Tage noch eine Zeit sehr großer Schwankungen des Appetits, während hier die Schwankungen sich sehr bald ausgleichen. Außerdem war es im Falle des Hafers ein allmähliches und ununterbrochenes Streben des Organismus, die Nahrungsaufnahme zu reduzieren, hier aber ist die Verminderung der Quantität der Nahrungsaufnahme nur in den ersten 2 Wochen bemerkbar, d. h. während der vier Bilanzperioden (wenn man die durchschnittliche Quantität der Nahrung pro Tag in jeder Periode vergleicht). Weiterhin stellt sich ein mehr oder minder stabiles Maß der einzunehmenden Nahrung ein (bei einem unveränderten Gewicht des Huhnes) (siehe oben).

¹⁾ Hirse zweiter Lieferung.

Die Stickstoffbilanz, welche während der ersten 35 Tage in neun Perioden festgestellt wurde, meistens von je 4 Tagen Dauer, zeigt ein ganz anderes Bild, verglichen mit der Haferdiät. Hier können wir während der 35 Tage kein einziges Mal ein Stickstoffgleichgewicht entdecken, sondern immer eine große positive Stickstoffbilanz (siehe Tabelle VIII und Abb. 1 und 2).

Tabelle VIII.

Periode	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Proz. des N in bezug auf den Nahrungs-N	9,7	17,8	19,7	18,2	24,9	17,0	23,4	18,5	13,0	9,5	1,2

Am 8. November endeten die Bilanzperioden, doch wurde der Vogel auch weiter *unter denselben Bedingungen gehalten*, sein Kot alle 4 Tage gesammelt und bis zur nächsten Periode von 4 Tagen aufbewahrt, um im

Falle des Auftretens irgendwelcher Veränderungen nicht nur die Stickstoffbilanz der gegebenen Periode zum Vergleich zu haben, sondern auch diejenige der vorhergehenden. Die Beobachtungen dauerten bis zum 24. Dezember. (Die Veränderungen im Gewicht während dieses Zeitraumes sind in Tabelle VII aufgezeichnet.)

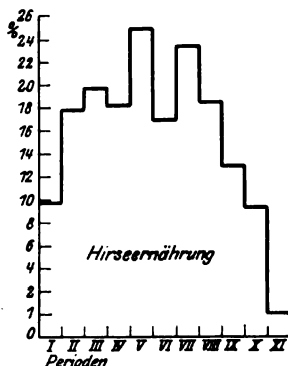


Abb. 1. Die Bilanz des N in Proz. bezüglich des aufgenommenen Nahrungstickstoffs.

Wenn man die Veränderungen im Gewicht mit den analogen Veränderungen der positiven Stickstoffbilanz vergleicht, muß man der Tatsache Aufmerksamkeit schenken, daß, während der Stickstoffansatz innerhalb der sieben Perioden im allgemeinen *absolut wächst* (mit Schwankungen), *das Körpergewicht allmählich während desselben Zeitraumes fällt*, so daß auch die Stickstoffzunahme überhaupt in keinerlei Verbindung mit der Aufspeicherung von Reservestoffen im Körper steht, auf deren Rechnung

gewöhnlich die Zunahme im Körpergewicht zu setzen ist. Nach der siebenten Periode ist ein *Fallen der positiven Stickstoffbilanz* bemerkbar und zu gleicher Zeit eine entgegengesetzte Erscheinung, was das Gewicht anbetrifft, eine *allmähliche Steigerung desselben* (es steigt jetzt ununterbrochen, wie aus der Tabelle zu sehen ist, bis zum Abschluß der Beobachtungen, bis zum 125. Tage). Am 24. Dezember war ich aus rein technischen Gründen und in Verbindung mit den Ferien gezwungen, den Käfig mit dem Vogel in die Privatwohnung meiner Assistentin, Frau A. I. Ochotnikowa, zu bringen, wo die Feststellung des Gewichtes beim Vogel unterblieb, jedoch das Füttern und die Behandlung des Huhnes ceteris paribus vor sich ging.

Nachdem das Huhn am 29. Januar wieder im Laboratorium installiert worden war, fanden wir an ihm eine Gewichtszunahme (im Vergleich mit dem Anfangsgewicht) von 16 Proz. (1600 g).

In voller Übereinstimmung mit dem oben Erwähnten gab uns jetzt die Stickstoffbilanz (während der zehnten Periode vom 30. Januar bis 2. Februar) eine unbedeutende Stickstoffretention, und in der folgenden, elften Periode, zeigte sich ein ungefähres Stickstoffgleichgewicht. Ich erlaube mir hier den Gedanken auszudrücken, daß solch eine andauernde Stickstoffretention im Körper natürlich nicht dadurch erklärt werden kann, daß in den Organis-

mus mehr Hirseeiweißstoffe eingeführt wurden, als derselbe imstande war zu spalten und zu oxydieren. Die diesem vorhergehende 84tägige Haferdiät hatte wahrscheinlich im Organismus einen gewissen Mangel an einigen Arten von Eiweißvarianten geschaffen, mit welchem sich der Organismus wohl für einige Zeit abfinden konnte; die Hirse aber glich wahrscheinlich diesen Mangel aus, was der Organismus im höchsten Maße ausnutzte, indem er sich mit dem notwendigen Eiweißmaterial versorgte. *Deshalb entsteht hier die positive N-Bilanz.*

Während dieser Arbeit hatte der Organismus in seinen Vorratsdepots keine stickstofffreien Materialien zurückgelegt, sobald jedoch die Sättigung mit stickstoffhaltigen Stoffen stattgefunden hatte, verminderte sich diese Stickstoffretention mehr und mehr (vgl. die graphischen Aufzeichnungen der achten, neunten und zehnten Periode, Abb. 2). Von dieser Zeit an wurde der Überfluß der Nahrung zur Aufspeicherung stickstofffreier Produkte verwendet, was sogleich eine ziemlich bedeutende Gewichtszunahme des Vogels hervorrief.

Der Vergleich der Hirse- und Haferernährung gibt uns noch ein interessantes Faktum. Während im ersten Falle der Organismus nicht an Appetitlosigkeit litt, sondern sich auf einer mehr oder weniger beständigen Höhe hielt, eher mit einer Tendenz zur Vergrößerung des Appetits, sank der Appetit allmählich bei der Haferdiät. Wir könnten folgende hypothetische Erklärung geben: die Hirsenahrung ist eine sich leicht anpassende und vollwertige, bei deren Aufnahme in größeren Quantitäten der Organismus keinerlei Beschwerden erleidet, sondern sich nur mit Stoffen, welche den Appetit reizen, sättigt, während er bei der Haferdiät danach strebt, so wenig wie möglich von diesem Stoff zu verbrauchen, wahrscheinlich wegen der schweren Verdauungsarbeit, die zur Verwertung dieser Nahrung geleistet werden muß.

Die Quantität der Nahrung in der zehnten Periode (30. Januar bis 4. Februar) war mit der Berechnung verabreicht worden, daß die Quantität des Aufgegessenen sich der achten und neunten Periode ungefähr näherte. Folglich war die Verabreichung der Nahrung hier nicht ad libitum, sondern vorher bestimmt (der Vogel besaß einen sehr guten Appetit und hätte viel mehr aufgefressen). Das Experiment mit der Hirse war am 6. Februar beendet worden, und das Huhn wurde nun auf Futter, welches aus enthülster Hirse bestand, gesetzt.

III. Die Ernährung mit enthülster Hirse.

Diese enthülste Hirse war von uns in Moskau auf dem Markte gekauft worden. Der Stickstoffgehalt betrug nach meinen Untersuchungen im Durchschnitt: 1,8586 Proz. Die Dauer der Ernährung mit enthülster Hirse betrug 33 Tage (vom 7. Februar bis 11. März), in acht Bilanzperioden, ohne Unterbrechung, eine auf die andere folgend [vom 7. Februar bis 7. März (29 Tage)]. Die Schwankungen im Gewicht sind in Tabelle IX (in Prozenten des Anfangsgewichtes) aufgezeichnet.

Aus dieser Tabelle und aus der Abb. 2 ist es klar, daß das Gewicht bei dieser Diät zuerst wie früher stieg, doch vom ersten Tage der vierten Periode an allmählich und ununterbrochen bis zuletzt fiel. In einer verhältnismäßig kurzen Zeit (von 25 Tagen) fiel das Gewicht bis zum ursprünglichen (1375 g), welches als 100 angenommen war.

Um einen besseren Vergleich des Stickstoffumsatzes bei Ernährung mit Hirse zu erlangen, hatte ich die Absicht, dem Huhne so viel enthülster

Tabelle IX.

Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.
7. II.	119,2	16. II.	118,5	25. II.	112,0	6. III.	103,6
8. II.	120,7	17. II.	117,8	26. II.	112,0	7. III.	101,5
9. II.	121,8	18. II.	117,8	27. II.	110,5	8. III.	100,0 ¹⁾
10. II.	122,1	19. II.	116,3	28. II.	110,5	9. III.	99,06 ¹⁾
11. II.	120,0	20. II.	115,6	1. III.	109,9	10. III.	98,99 ¹⁾
12. II.	116,7	21. II.	114,9	2. III.	108,3	11. III.	97,10 ¹⁾
13. II.	117,4	22. II.	114,1	3. III.	108,5		
14. II.	117,8	23. II.	113,4	4. III.	107,0		
15. II.	118,5	24. II.	112,5	5. III.	104,0		

(Diese Zahlen sind auch in der allgemeinen Graphik angegeben, s. Abb. 2.)

Hirse zu geben, als (nach Stickstoffgehalt) der zehnten und elften Periode der Hirseernährung gleichkam, doch fraß das Huhn kein einziges Mal die verabreichte enthülste Hirse vollständig auf, so daß die Nahrung ihm auch hier ad libitum zu Gebote stand. Der größte Appetit zeigte sich am ersten Tage, fiel aber sodann scharf und schnell. In der dritten Periode stieg der Appetit wieder, um sodann stufenweise bis zum vollen Versagen zu fallen. (Am 11. März nahm das Huhn nur 0,1 g während des ganzen Tages zu sich.) Auch hier, wie in den vorhergehenden Fällen, bemerkten wir periodische Schwankungen des Appetits, am Anfang scharfe, nachher schwächere, bis sich endlich täglich (vom 20. Tage an) ein beständiges Fallen desselben einstellt.

Die Stickstoffbilanz stellt ein sehr eigenartiges Bild dar. In der ersten Periode sehen wir eine gewisse Retention des N (bis $7\frac{1}{4}$ Proz.), dagegen zeigt die nächste Periode eine durchaus negative Bilanz; nach der Wiederkehr des Appetits auf enthülste Hirse nähert sich die Bilanz wieder der 0 (das Defizit ist nur 3 Proz.), jedoch sehen wir später ein bis zu ungeheurem Maßstabe immer wachsendes Defizit. (Siehe Abb. 2.)

Wenn wir nun die Kurven des Stickstoffumsatzes während der Perioden der enthülsten Hirseernährung einzeln betrachten, müssen wir unsere Aufmerksamkeit darauf richten, daß wir bei 1 g Stickstoffgehalt in der Nahrung noch eine positive Bilanz des N ($7\frac{1}{4}$ Proz.) hatten, daß aber die Verminderung des Stickstoffgehaltes im Futter auf 0,08 g schon eine negative Bilanz hervorruft. Ähnliche oder sogar stärkere Schwankungen des Stickstoffgehaltes der Nahrung gaben bei anderen Diäten keine so prononcierten Folgen. Hieraus könnten wir schließen, daß die großen Defizite im Stickstoff hier nicht die Folge eines unbedeutenden Verbrauches des Stickstoffs sind, sondern durch tiefe dystrophische Prozesse im Organismus begründet werden, und das Fallen des Appetits selbst vielleicht die Folge der Zerstörung solcher Stoffe ist, deren Vorhandensein im Normalzustande des Organismus das Appetitgefühl seine Entstehung verdankt.

Wenn wir nun weiter die zweite Periode (0,4 g Stickstoffgehalt in der Nahrung mit der negativen Bilanz von etwa 0,2 g) mit der siebenten Periode vergleichen, wo der Stickstoffgehalt quantitativ ungefähr gleich ist, so ist ein scharfer Unterschied im Defizit sehr augenfällig, das im zweiten beinahe doppelt so groß als im ersten Falle ist (s. Abb. 2).

¹⁾ Ohne Bilanzbeobachtungen.

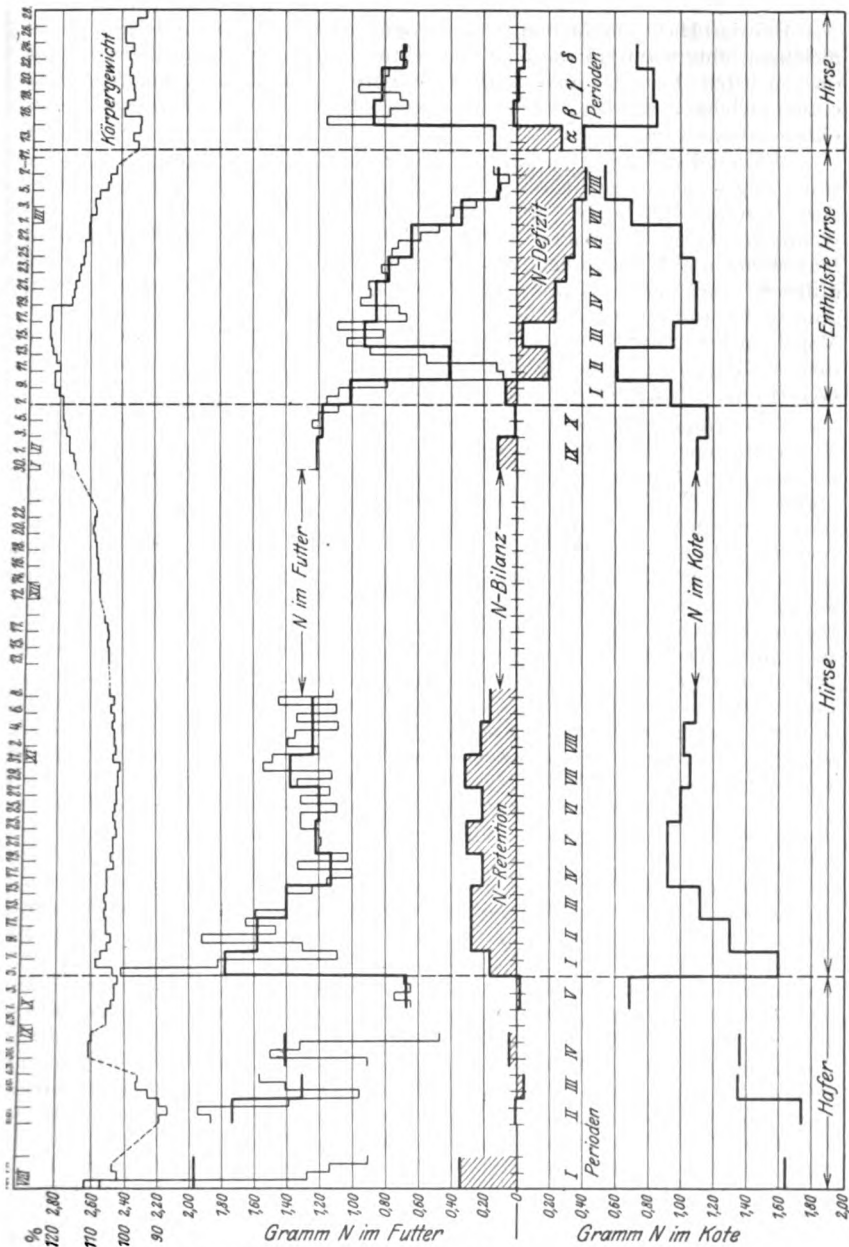


Abb. 2. Dünne Linie, erste = Körpergewicht.
 zweite = täglich aufgenommene N-Menge.
 Fette Linie, erste = N im Futter.
 zweite = N Bilanz, } durchschnittlich pro Tag
 dritte = N im Kote, } in jeder Periode.
 Die Zeichnung ist von J. W. Rodionow ausgeführt.

Bei der Haferdiät geben 0,7 g N der Nahrung ein stabiles Stickstoffgleichgewicht, während dieselbe Quantität des N enthülster Hirse (0,64 g der sechsten Periode) den Organismus nicht unterhält, sondern sogar einen gleichkommenden Verbrauch (von 103 Proz.) aus dem Vorrat des eigenen Organismus fordert.

Während der Zeit, wo der Vogel mit enthülster Hirse ernährt worden war, zeigte sein Organismus eine Reihe pathologischer Erscheinungen. Am vierten Tage beobachteten wir Durchfall, und vom 14. Februar anfangen, zeigte das Huhn eine merkliche Schwäche, müde Bewegungen, herabhängende Flügel, obgleich auch in dieser Zeit das Sinken des Appetits aufhörte und die regelmäßig abwechselnde Steigerung desselben auftrat. Am 16. Februar schreibt mein Kollege, Assistent Dr. B. A. Minin, der den Vogel fütterte, im Tagebuch der Versuche: „Das Huhn hält sich kaum auf den Füßen, zittert, die Flügel hängen während der ganzen Zeit herab, das Huhn selber liegt auf dem Plättchen“.

Das Bringen des Futters auf den Tisch vor dem Käfig sowie verschiedene Vorbereitungen zum Füttern rufen jetzt beim Vogel, im Gegensatz zum gewöhnlichen Benehmen, keine Aufregung hervor, das Huhn kommt nicht einmal freiwillig aus dem Käfig heraus; man ist gezwungen, es mit Gewalt herauszunehmen. Übrigens war der Appetit nicht gering, wie schon oben bemerkt. Dieser krankhafte Zustand ist während der ganzen Zeit der Diät mit enthülster Hirse bemerkt worden. In der fünften Periode hingen die Flügel schon so niedrig herab, daß sie die Flüssigkeit (im Eisenblech) berührten (die Schwungfedern wurden hierauf kurzgeschnitten und sorgfältig in einer Lösung von Li_2CO_3 abgewaschen. In dieser selben Periode (24. Februar) zeigte sich Hinken auf dem rechten Fuße, jedoch bei Berührung, beim Drücken auf das Gelenk usw., wurde der Fuß nicht zurückgezogen, und es gelang überhaupt nicht, den Sitz der Schmerzempfindungen zu entdecken. Die Schwäche wächst von Tag zu Tag, und das Huhn frißt jetzt sogar auf dem Bauche liegend. Der Kamm, der am Ende der Hirseperioden hochrot gefärbt war, bekommt jetzt die Farbe venösen Blutes, die Basis des Kammes wird weißlich. Es zeigt sich Schläfrigkeit. Der Vogel liegt meistens. Hier muß ich bemerken, daß gleichzeitig mit dem Auftritt dieser anormalen Erscheinungen die Temperatur des Laboratoriums infolge einer plötzlichen Beschädigung der Röhren der Wasserdampfheizung im Gebäude sinkt, und im Zimmer, wo das Huhn sich befand, betrug die Temperatur nur $+1^\circ\text{C}$ (17. Februar 1923). Deswegen hatte ich den Verdacht, daß der Vogel sich erkältet haben könnte und daß die Lahmheit des Fußes auf Rheumatismus zurückzuführen sei. Der von mir zu einer Konsultation hinzugezogene Professor W. W. Nagorsky (Veterinär) vermochte meine Vermutung nicht zu bestätigen. Die Temperatur des Huhnes war normal (per anum) $40,7$ bis $40,2^\circ$. In der siebenten Periode macht sich eine unbedeutende Verbesserung im Gesundheitszustand des Huhnes bemerkbar, obgleich das Huhn zu dieser Zeit 102,8 Proz. an Stickstoff verliert (was den Stickstoffgehalt in der Nahrung anbetrifft). Es stellt sich wieder Beweglichkeit ein: der Vogel hüpfte auf einem Fuße und kehrt so aus freiem Antrieb nach dem Essen in den Käfig zurück. Trotz dieser Verbesserung, welche sich auf die achte und neunte Periode erstreckt, ist der Appetit des Vogels nicht wieder hergestellt, und am 11. März vertilgt das Huhn nur 0,1 g der Nahrung. Ein weiteres Füttern des Huhnes mit enthülster Hirse wäre dem Hungertode gleichzustellen gewesen, und so beschloß ich, das Futter wieder auf gewöhnliche Hirse zu setzen. Leider konnten die Beobachtungen während der

letzten Periode nicht durchgeführt werden, da vom 8. bis zum 11. März das Huhn einige Male infolge von Schwäche, was früher nicht beobachtet worden war, auf das Eisenblech fiel, so daß die Beobachtungen von neuem angefangen werden mußten, nachdem das Huhn jedesmal sorgfältig abgewaschen worden war.

IV. Zweite wiederholte Hirseernährung.

(Die Hirse ist aus der zweiten Lieferung, siehe oben.) Das Futter wird hier pro Tag nicht ad libitum verabreicht, sondern in Quantitäten, die an Stickstoffgehalt mit denjenigen der letzten Tage der enthülsten Hirsediät gleichkommen (der achten Periode und der nachfolgenden Tage, siehe Tabelle X und Abb. 2).

Tabelle X.

(Das Anfangsgewicht, 1375 g, ist als 100 angenommen.)

Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.	Datum	Gewicht Proz.
12. III.	95,2 (α)	17. III.	97,7	22. III.	96,9 (δ)	27. III.	95,3
13. III.	96,4	18. III.	96,0 (γ)	23. III.	97,5	28. III.	92,6
14. III.	94,6	19. III.	96,3	24. III.	96,7	29. III.	—
15. III.	93,9 (β)	20. III.	97,1	25. III.	98,9		
16. III.	98,9	21. III.	97,6	26. III.	98,9		

Das Gewicht des Vogels, welches am Anfange dieser Experimente mit Hirse bis auf 1335 g gefallen war (97 Proz. des Anfangsgewichtes), fiel während der ersten Periode, welche ich hier mit α bezeichne, noch weiter bis auf 1300 g (94,6 Proz., siehe Tabelle X). *Indessen verminderte sich das Defizit des Stickstoffs, sich ungefähr der Linie der vierten und fünften Periode der enthülsten Hirsediät nähernd, bei der N in der Nahrung in einer Menge von 0,86 bis 0,78 g enthalten war, im Gegensatz zu den 0,14 g pro Tag der α -Periode der Hirsediät.* Diese Tatsache beweist sehr klar den Vollwert der Hirse und folglich die Veränderung dieses Vollwertes beim Enthülsen des natürlichen Kornes.

In der folgenden Periode (β) wurde dem Vogel so viel Hirse verabreicht, wie derselbe in der vierten Periode der enthülsten Hirsediät zu sich genommen hatte (im Äquivalent des N), damals betrug nämlich das Stickstoffdefizit 27 Proz. an Stickstoff in der Nahrung, jetzt hingegen zeigt sich die Stickstoffbilanz als positiv (+ 2,6 Proz.). Das Gewicht des Vogels stieg ein wenig während dieser Periode und hielt sich auf dieser Höhe während der ganzen zweimaligen Fütterung mit Hirse.

In den folgenden Perioden γ und δ vermindert sich der Appetit allmählich, die Bilanz des Stickstoffs nähert sich 0 in der γ -Periode und wird negativ in der δ -Periode. Übrigens sind diese Perioden schwer zu erklären, da am 25. März, d. h. am 14. Tage der Hirseernährung, das Huhn plötzlich die Nahrungsaufnahme gänzlich verweigerte, obgleich es noch am Tage vorher mit Appetit 42 g Hirse zu sich genommen hatte. Noch am 24. März beobachteten wir, wie der Kot in richtigen Würstchen, die in Schleim wie in einem Säckchen saßen, ausgeworfen wurde. Unter dem Mikroskop zeigte der Schleim keine bakterielle Natur; Eiterzellen waren nicht vorhanden. Am 25. März, am Tage der völligen Nahrungsverweigerung, konnte man im Kropf eine grützeartige Masse der Körner durchfühlen. Der Vogel zeigte wieder Schläfrigkeit, saß mit eingezogenen Füßen, herabhängendem Kopf

und meistens mit geschlossenen Augen. Am 26. März, während der Vogel von der Wage in den Käfig gebracht wurde, stellte sich Erbrechen ein, der Vogel gab viel Flüssigkeit, vermengt mit ganzen Hirsekörnern, von sich. Diesen Tag hatte der Vogel keinen Appetit; es wurde nur Urin und kein Kot ausgeschieden. Derselbe Zustand war auch am 27. März. Am nächstfolgenden Tage versuchte das Huhn zu fressen (10 g Hirse). Am Abend konnten wir eine Verhärtung des Kropfes durchfühlen, und am nächsten Morgen wurde eine Operation beschlossen, aber infolge der Schwäche des Vogels wurde anstatt dieser eine Auswaschung des Kropfes mit der Sonde vorgenommen. An diesem Tage machte sich noch eine Eiterung der Augen bemerkbar. Am 30. März ging der Atem des Huhnes schwer, Koma. Mit dem Auswaschen wurde fortgefahren. Am 31. März wurde auf Verordnung des Arztes Ol. ricini und Creolini, à 5 ccm, verabreicht. Am 1. April Exitus letalis. Nach dem Öffnen des Kropfes und des Magens zeigte sich nichts Anormales. Im Dünndarm waren punktförmige Blutungen. Auf der äußeren Oberfläche der Lungen waren weiße, quarkähnliche Filmen. Die rechte Niere war von einer dichten (2 bis 3 mm), quarkförmigen, lockeren, gelblichen Kapsel eingeschlossen, die linke Niere war beträchtlich weicher als die rechte, jedoch ohne Kapsel und mit weißen Punkten bedeckt. Die Leber und die Milz waren normal. Die Bauch-, Brust- und Augenmuskeln waren mit weißen Filmen bedeckt. Unter dem Mikroskope erwiesen sie sich als Pilzhypen, ähnlich dem *Penicillium* (in einer feuchten Kammer kultiviert, gaben sie Fruchtkörper, jedoch gelang es uns nicht, die Art zu bestimmen).

Unvorhergesehener Ursachen halber gelang es uns leider nicht, die Nieren und die Bildungen, die sich auf denselben entwickelt hatten, zu untersuchen.

Obwohl die Diagnose der Krankheit uns unbekannt ist, glauben wir uns nicht zu irren, wenn wir den Schluß ziehen, daß der Organismus des Vogels sich solchen Prozessen unterwerfen mußte, welche als Verfallserscheinungen anzusehen waren. In Übereinstimmung hiermit steht das Auftreten des Pilzes, obgleich der letztere an und für sich unschädlich ist¹⁾. Andererseits geben die Lebensbedingungen des Huhnes keinen Anlaß, anzunehmen, daß die Krankheit einen außerhalb der Behandlung liegenden Grund hatte. Ich bin geneigt, anzunehmen, daß der dystrophische Zustand des Huhnes eine Folge der einseitigen Nahrung war, die so verderblich auf den Organismus wirkte, daß die Rückkehr zum Normalzustand unmöglich wurde.

Die vorliegende Arbeit erhebt durchaus keinen Anspruch darauf, die allgemeine Gültigkeit der hier verzeichneten Folgerungen zu beanspruchen; sie muß vielmehr als ein Rekognoszierungsversuch angesehen werden, da ich durch Wiederholung ähnlicher Experimente mit anderen Nahrungsmitteln den Einzelheiten näher zu kommen gedenke, um auf diese Weise die Lösung der Fragen, die mit der einseitigen Ernährung verbunden sind, zu fördern.

Ich sehe es als eine angenehme Pflicht an, meinen Kollegen im Laboratorium, meinen Assistenten A. I. Ochotnikowa, K. A. Lawrowsky und Dr. B. A. Minin für ihre wertvolle Hilfe meinen Dank auszusprechen. Ebenso bin ich meiner Fakultät herzlich verbunden, insbesondere den

¹⁾ Wir haben Spuren von *Aspergillus* gesucht, jedoch, trotz der Hilfe unserer Kollegen, der Botaniker, erfolglos. Es ist anzunehmen, daß dieser Pilz auch nicht vorhanden war.

Professoren *S. W. Poletajew*, *M. A. Sewitow*, *A. A. Krasjuk* und *E. O. Choroschkowa*. Meinen besonderen Dank drücke ich Herrn Professor *M. N. Schaternikow* an der Moskauer Universität aus, meinem Lehrer, der mir immer mit seinem Rat beigestanden hat.

Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Andauernde (84 Tage) Ernährung des Vogels ausschließlich mit Hafer (ad libitum) hatte allmähliches Sinken des Appetits bei beinahe unverändertem Körpergewicht zur Folge. Die N-Bilanz war fast 0. Tägliche Appetitsschwankungen hatten einen periodischen Charakter. (Die Bilanzversuche in der 1. bis 5. Periode.)

2. Beim Übergang auf die ausschließliche Hirseernährung (ad libitum) im Laufe der 125 Tage (Bilanzversuche in der 1. bis 11. Periode) wird die N-Bilanz sofort stark positiv und bleibt als solche im Laufe des ersten Monats bei etwa konstantem Körpergewicht.

3. Darauf steigt das Körpergewicht mehr und mehr, indem sich die N-Retention allmählich verkleinert und der Vogel das N-Gleichgewicht erreicht.

4. Beim Übergang auf die enthülste Hirse (ad libitum) entsteht sehr bald das N-Defizit, das sich von Tag zu Tag bis zu einem großen Umfange vermehrt. Gleichzeitig damit sinken Appetit und Körpergewicht. Nach $2\frac{1}{2}$ Wochen vom Anfange dieser Ernährung treten die Erscheinungen auf, die den Symptomen der alimentären Dystrophie ähnlich sind, nämlich: Schwäche, Schläfrigkeit, Lahmheit, Herabsinken der Flügel usw. Diese Erscheinungen dauern $1\frac{1}{2}$ Wochen, während sie aber allmählich geringer werden. Die Untersuchungsdauer — 33 Tage. (Die Bilanzversuche in der 1. bis 8. Periode.)

5. Die Rückkehr zur Hirseernährung ruft eine merkliche Besserung im Zustande des Tieres hervor. Das N-Gleichgewicht tritt nach 3 Tagen ein. Der Appetit wächst scharf, aber nach 2 Wochen dieses Regimes Verweigerung der Nahrung, schneller Übergang zu einem komatösen Zustande und nach einer Woche — Exitus letalis.

Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung.

III. Mitteilung:

Über die Bindung der wirksamen Farbstoffe in der Zelle.

Von

P. Metzner.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 9. April 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text

1. Einleitung.

Die Frage nach dem Angriffsort der photodynamisch aktiven Farbstoffe ist schon verschiedentlich aufgerollt worden; sie ist ja auch für das Verständnis des Mechanismus der Lichtwirkung in der lebenden Zelle von größter Bedeutung. Es handelt sich dabei zunächst um die Entscheidung, ob die Farbstoffe in die Zelle eindringen und erst dort ihre Wirkung entfalten („Innenwirkung“), oder ob bloßer Kontakt mit der Farblösung während der Belichtung genügt, wobei die eigentliche photochemische Reaktion außerhalb des — nunmehr von den Reaktionsprodukten beeinflussten — Objektes stattfindet („Außenwirkung“). Nur im ersten Falle haben wir es mit einer *physiologisch* bedeutsamen Sondererscheinung zu tun, während bei Außenwirkung lediglich ein Fall von indirekter chemischer Beeinflussung vorliegen würde. Insbesondere muß das für die von mir beobachteten Reizbewegungen unter dem Einfluß des Lichtes in Farbstofflösungen gelten (14) (15), die nur bei Innenwirkung den normalen phototaktischen Erscheinungen gleichgestellt werden können. Auch der von mir beobachtete „induzierte Phototropismus“ sonst lichtunempfindlicher Wurzeln (16) besitzt nur unter der Annahme einer Innenwirkung der Farbstoffe physiologisches Interesse.

Die mikroskopische Beobachtung mit den gewöhnlichen Methoden führt zu keinem Ergebnis: es ist auffallend, daß das lebende Protoplasma gerade in den wirksamsten Farblösungen (etwa Eosin, Erythrosin, Rose bengale — die auch sonst als schwer vital eindringend bekannt sind — vgl. z. B. Küster, *Ruhland*) keine Spur von Anfärbung erkennen läßt, während nach dem Absterben sofort intensive Speicherung des Farbstoffes erfolgt. Dagegen zeigen photodynamisch wirksame Substanzen, die gleichzeitig vital färben — wie Neutralrot, Rhodamin B, Methylenblau — durchaus nicht die ihrer Anhäufung in der Zelle entsprechende Wirksamkeit: es kommt offenbar auch auf die

Art und Weise der Bindung in der Zelle an¹⁾. Wir müssen schließlich bedenken, daß sehr geringe Farbstoffmengen — besonders wenn sie nur auf die peripheren Teile der Zelle beschränkt bleiben — der Beobachtung leicht entgehen, andererseits aber schon zur Auslösung intensiver photodynamischer Wirkungen ausreichen können. *Osthelder* und *Erhardt* (19) nahmen die Belichtung an *Paramaecien* vor, die zuvor mechanisch (durch Filtrieren und Aufschwemmen in reinem Wasser) von der Farbstofflösung getrennt waren, um so etwa in wirksamer Form gebundenen Farbstoff nachzuweisen. Nur Methylenblau und dichloranthrazendisulfosaures Natron ließen auf diese Weise Innenwirkung erkennen. Versuche mit Eosin zeigten nach dem Auswaschen keinen Erfolg; daraus wurde auf Außenwirkung geschlossen. Nähere Überlegung zeigt aber, daß derartige Versuche — die in ähnlicher Weise an anderen Objekten auch von *Gickthorn* (7) und *Noack* (18) ausgeführt wurden — kein eindeutiges Resultat ergeben können. Eine Innenwirkung ist offenbar auf verschiedene Art und Weise möglich: chemische Bindung an bestimmte Plasmabestandteile, einfache Adsorptions- und Lösungserscheinungen können beteiligt sein. Alle drei — besonders aber die beiden letztgenannten Phänomene — sind ausgesprochen reversible Prozesse, so daß das Objekt nach dem Verbringen in reines Wasser in mehr oder weniger langer Zeit seinen Farbstoff wieder abgeben kann. Wenn es sich um ein Lösungsgleichgewicht handelt, wird die Abgabe sehr rasch geschehen, und Versuche mit ausgewaschenen Objekten werden *stets* negativ verlaufen müssen. Adsorbierte Farbstoffe werden je nach Beschaffenheit des adsorbierenden Körpers mehr oder weniger langsam wieder abgegeben, während das Gleichgewicht beim Einbringen in die Lösungen sehr rasch erreicht wird. Das gilt im besonderen für langsamer diffundierende Farbstoffe mit anomaler Adsorption, bei denen selbst irreversible Adsorptionsverbindungen mit dem Adsorbens nicht selten sind. Je nach der Geschwindigkeit der Farbstoffabgabe beim Auswaschen wird dann „Innenwirkung“ nachgewiesen oder „Außenwirkung“ vorgetäuscht werden können²⁾. Für Eosin ist denn auch von *F. H. v. Tappeiner* (27) mit

¹⁾ Weitere Gründe für die geringe Wirkung sollen erst später besprochen werden.

²⁾ Noch verwickelter werden die Vorgänge, wenn — wie bei botanischen Objekten — Spuren der Farbstoffe in den Zellwänden verbleiben, die auch in reinem Wasser genügend Farbstoff an das benachbarte Protoplasma abgeben können, also hier wieder eine Täuschung möglich machen (vgl. *Noack* (18), S. 322). — Besonders erschwert wird die Entscheidung, ob Außen- oder Innenwirkung vorliegt, noch durch den Umstand, daß — wie wir nach den Untersuchungen von *Hansteen-Cranner* (8) annehmen müssen — die Zellwand selbst von Phosphatiden durchdrungen ist, die dem lebenden Plasma angehören. Darum sind für die hier angeschnittenen prinzipiellen Fragen die nackten Zellen der Infusorien viel besser geeignet.

ähnlicher Methodik bei roten Blutkörperchen eine Aufnahme in relativ hoher Konzentration und langsame Abgabe nachgewiesen worden, die adsorptive Bindung vermuten läßt. Ich denke, daß sich die Dinge bei Paramaecien ähnlich verhalten werden, nur mit dem Unterschied, daß die Entfärbung rascher vor sich geht. Genaueren Aufschluß darüber könnte man erst erlangen, wenn es möglich wäre, das Dasein des Farbstoffes in der Zelle *während des Kontaktes* mit der Lösung nachzuweisen und schließlich den Zusammenhang zwischen der Konzentration des Farbstoffes im Plasma und in der Lösung (auch während der Berührung) zahlenmäßig zu ermitteln. Über den qualitativen Nachweis kann ich weiter unten berichten, die zahlenmäßigen Verhältnisse sind jedoch bei Infusorien kaum festzustellen. Unter der Annahme einer Proportionalität zwischen Konzentration im Plasma und physiologischer Wirkung (Tötungszeit bei konstanter Belichtung oder sonst gleichen Bedingungen) kommt man wohl zu Werten, die bei graphischer Darstellung die Form einer Adsorptionskurve ergeben, aber wegen der Unsicherheit in der quantitativen Erfassung der Wirkung keinen Anspruch auf Beweiskraft machen können. Günstiger liegen die Dinge in dieser Hinsicht bei der hämolytischen Wirkung der Farbstoffe, die sich leichter zahlenmäßig bestimmen läßt. An dieser Reaktion wurde von Jodlbauer und Haffner (10) festgestellt, daß die Farbstoffaufnahme dem Adsorptionsgesetz folgt, und daß nur die von den Zellen aufgenommenen Farbstoffmengen wirksam sind. Freilich ist auch das allein nicht beweisend; ich erinnere daran, daß *jedes* kompliziertere Phänomen in der Zelle schließlich den Gesamtcharakter einer Adsorption annehmen muß (vgl. Bechhold, S. 32). In unserem Falle wird allerdings die Annahme adsorptiver Bindung sehr wahrscheinlich gemacht durch die gleichzeitig vorhandene (und, wie wir sahen, bei Auswaschversuchen leicht „Außenwirkung“ vortäuschende) Reversibilität der Farbstoffaufnahme. Bei chemischer Bindung oder anomaler Adsorption — die meist irreversibel sind — geht dagegen erfahrungsgemäß die photodynamische Aktivität verloren oder wird so beeinträchtigt, daß die Beteiligung eben dieser irreversibel gebundenen Phasen mindestens zweifelhaft erscheint. So ist wohl auch die verhältnismäßig geringe Wirkung gewisser Vitalfarbstoffe zu erklären.

Dagegen ist es auf ganz anderem Wege möglich, die Innenwirkung der aktiven Stoffe *direkt* nachzuweisen. Bei Versuchen über das Verhalten von Infusorien im Starklichtspektrum (15) hatte sich herausgestellt, daß das „Empfindlichkeitsspektrum“ der mit Eosin oder Erythrosin sensibilisierten Objekte mit dem Absorptionsspektrum der Lösung zwar im Charakter übereinstimmt, jedoch beträchtlich nach Rot zu verschoben erscheint. Die Deutung dieser auffallenden Tatsache sah ich darin, daß der Farbstoff in die Zelle — wenn auch nur

in Spuren — aufgenommen wird, aber im Plasma ein anderes Absorptionsspektrum besitzt, das nun für die Lichtempfindlichkeit der Organismen maßgebend ist. In der vorliegenden Mitteilung soll zunächst an einer Anzahl weiterer „aktiver“ Farbstoffe die allgemeine Gültigkeit der früher beobachteten Erscheinungen gezeigt werden. Weiterhin wird aber der Versuch gemacht, genauere Aufschlüsse über den *Zustand* der Farbstoffe im Protoplasma und schließlich auch über den *Ort* ihrer Bindung in topographischer und chemischer Hinsicht zu erlangen. Zu diesem Zwecke habe ich nun auch versucht, das Absorptionsspektrum des Farbstoffes im Plasma selbst direkt festzustellen und mit dem Empfindlichkeitsspektrum einerseits, andererseits mit den Absorptionsspektren angefärbter organischer Substanzen zu vergleichen, die als Adsorbentien in der Zelle in Frage kommen. Die auffälligste gemeinsame physikalische Eigenschaft der wirksamen Farbstoffe — die ja auch vielfach deswegen mit der Wirksamkeit in direkte Beziehung gebracht wird — ist die Fluoreszenzfähigkeit; ich habe darum auch die Fluoreszenz der im Objekt gebundenen Farbstoffmengen nachzuweisen versucht und ebenfalls die Fluoreszenz angefärbter organischer Körper verglichen. — Wir wenden uns zunächst den physiologischen Versuchen zu.

2. Das Verhalten in der Starklichtfalle.

Für die Untersuchung der spektralen Verteilung der Empfindlichkeit konnten aus naheliegenden Gründen nur Farbstoffe in Frage kommen, die eine sehr intensive photodynamische Wirksamkeit besitzen. Es wurden daher zuvor eine Anzahl orientierender Versuche mit weißem Lichte angestellt, auf die ich etwas genauer eingehe, weil sie das Auftreten phototaktischer Bewegungen bei einer Anzahl weiterer und chemisch recht differenter Farbstoffe zeigten. Ich benutzte dazu die schon in der zweiten Mitteilung (15) als „Starklichtfalle“ genauer beschriebene Versuchsanordnung und kann mich daher hier darauf beschränken, das Prinzip kurz anzudeuten. Im Präparat selbst wird mittels eines Mikroskopobjektivs, das die Stelle des Kondensors vertritt, eine quadratische Blende stark verkleinert abgebildet. Die Blendöffnung ist durch eine Schwachstrombogenlampe mit Kondensorlinse intensiv und gleichmäßig erhellt; für Ausschaltung der strahlenden Wärme ist Sorge getragen. So wird im Präparat ein scharf begrenzter Lichtfleck von recht erheblicher Intensität erzielt, in dem alle photodynamischen Beeinflussungen stark beschleunigt verlaufen. Direkte Beobachtung ist nicht möglich, die „Lichtfalle“ wird vielmehr auf einen etwa 1 m entfernten Schirm projiziert und dort beobachtet. Durch Ausphotometrieren der projizierten „Lichtfalle“ läßt sich annähernd die Lichtstärke im Präparat selbst ermitteln (vgl. 15, S. 148);

bei Verwendung von Objektiv 3 (Leitz) als Kondensor und 4 Amp. Lampenstrom erreichte ich eine Helligkeit von beiläufig 1200 000 MK¹⁾.

Die Versuche wurden wiederum mit *Paramecium caudatum* durchgeführt, nur gelegentlich wurden auch Colpidien verwandt. Wegen der Abhängigkeit der photodynamischen Wirkung von der Gegenwart freien Sauerstoffs wurden in der Regel offene flache Tropfen vorgezogen; wenn Deckgläser aufgelegt wurden, habe ich das besonders bemerkt. Sämtliche Lösungen wurden mit Leitungswasser hergestellt, weil destilliertes Wasser die Infusorien an sich schon — wenn auch nur schwach — schädigt. Wir beginnen mit den Farbstoffen der Fluoresceingruppe (Fluorescein, Eosin, Erythrosin, Uranin, Rose bengale).

1. *Fluorescein* gehört, wie schon *Tappeiner* feststellte, zu den am wenigsten wirksamen Farbstoffen der Fluoresceingruppe. So ließ sich auch in meinen Versuchen selbst in ziemlich stark gefärbter Lösung (1 : 4000) kein Absterben durch Lichtwirkung erzielen; dafür traten — wenigstens anfangs, solange der Farbstoff noch nicht ausgebleicht ist — im offenen Tropfen schöne *positive* phototaktische Reaktionen auf, die also zu einer zeitweiligen Anhäufung im Lichtfeld führen (über die Ursachen der zeitlichen Begrenzung dieser Erscheinung ist die vorhergehende Mitteilung zu vergleichen). Bei gesteigerter Lichtintensität durch Benutzung eines stärkeren Objektivs als Kondensor wurden die Reaktionen undeutlicher — teils wegen der Kleinheit des Strahlungsfeldes im Verhältnis zu den Objekten, teils wegen der Entfernung von den für positive Reaktionen maßgebenden Bedingungen.

2. *Uranin*; dieser ähnliche, noch stärker fluoreszierende Farbstoff hat noch schwächere Wirkung. Bei einer Konzentration 1 : 4000 treten positiv phototaktische Bewegungen nur andeutungsweise auf.

3. *Eosin* (gelblich) hat, wie ich schon früher zeigte, sehr kräftige Wirkung und kann je nach Lichtstärke und Sauerstoffzufuhr plötzliches Absterben, negative oder positive Reaktionen bewirken. Noch intensiver, aber in gleicher Weise abstufbar ist die Wirksamkeit von *Erythrosin* (vgl. 15).

4. *Rose bengale* hat übereinstimmend mit den Erfahrungen anderer Autoren wohl die stärkste Wirkung unter den Fluoresceinderivaten. In Lösung 1 : 4000 erfolgt blitzartiges Absterben im Licht, so daß in kürzester Frist das Strahlungsfeld schon makroskopisch an den dichtgedrängten toten Infusorien zu erkennen ist. Der Farbstoff wird dabei merklich ausgebleicht; phototaktische Reaktionen konnten nicht einwandfrei festgestellt werden.

5. *Pyronin* ruft in Lösung 1 : 5000 sehr deutliche *negative* Phototaxis hervor, die auch in offenen Tropfen sehr schnell abnimmt; eine positive Reaktion wurde nicht beobachtet.

6. *Rhodamin B* ist wieder stärker wirksam. Colpidien sterben bei Belichtung in 1 : 4000 sofort, *Paramecien* dagegen nur langsam. Diese Infusorien können noch längere Zeit unter wälzenden Bewegungen am Leben bleiben. Später tritt schöne negative Phototaxis ein. Besonders auffallend ist hier die starke violette Vitalfärbung der Tiere, die sich gleichmäßig auf das gesamte Plasma zu erstrecken scheint.

¹⁾ Da mir gegenwärtig nur Wechselstrom zur Verfügung steht, ist die Lichtausbeute selbst bei erhöhter Stromstärke erheblich geringer als in meinen früheren Versuchen. Das ist besonders für den Ausfall der Versuche im Starklichtspektrum von Bedeutung.

7. *Safranin T* hat nur schwache Wirkung; Colpidien werden zwar rasch zerstört, Paramaecien zeigen aber weder phototaktische Reaktionen noch auffallende Absterbeerscheinungen.

8. *Phenosafranin* verhält sich ganz ähnlich; in Lösungen 1:3000 treten aber zu Anfang der Versuche (wenn auch nicht sehr deutlich) negativ phototaktische Bewegungen ein.

9. *Neutralrot*, mit dem ich früher keine befriedigende Ergebnisse erzielte, zeigte in Lösung 1:5000 ebenfalls gute photodynamische Wirkung und nach einiger Zeit auch negativ phototaktische Bewegungen. Die sichtbare Färbung ist hier meist auf die Vakuolen beschränkt.

10. *Methylenblau* ist als Vitalfarbstoff bekannt, zeigt aber, wie ich schon 1919 mitteilte, bei den vorliegenden Versuchsbedingungen nicht sehr starke Wirksamkeit. In Lösungen 1:10000 findet man in der Lichtfalle reichliches Absterben, später nicht sehr ausgeprägte negative Reaktion.

11. *Magdalarot* erwies sich als recht wirksam (1:4000); Paramaecien und Colpidien wurden im offenen Tropfen fast augenblicklich zum Stillstand gebracht und in kurzer Zeit getötet. Wie fast bei allen untersuchten Farbstoffen, tritt auch hier nach einiger Zeit negativ phototaktische Reaktion in Erscheinung.

12. *Acridinrot* induziert schwächere Sensibilität. Colpidien werden in Lösung 1:5000 zwar in kurzer Zeit so geschädigt, daß eine passive Ansammlung zustande kommt; Paramaecien zeigen das gleiche, aber viel langsamer. Nach einiger Zeit traten auch hier — wenn auch nicht sehr deutlich — negativ phototaktische Reaktionen auf.

13. *Cresylechtviolett* schien zunächst keine besondere Lichtwirkung zu zeigen; die Tiere waren in Lösungen 1:2000 bei mäßiger Vitalfärbung schon im Dunkeln etwas geschädigt. Die Bewegung war stark gehemmt, meist schon in Taumeln und Rollen (die charakteristischen Bewegungsstörungen der Paramaecien) übergegangen. Es mußte aber bald auffallen, daß das Lichtfeld nach einiger Zeit der Bestrahlung frei von Paramaecien war, obwohl keine negative Reaktion beim Eintritt in das Strahlungsfeld festgestellt werden konnte. Genauere Beobachtung ließ dann eine recht eigenartige Erscheinung erkennen: Die in ihrer Bewegung behinderten Tiere beginnen nach einer bestimmten Zeit der Belichtung — in meinen Versuchen nach 0,5 bis 1 Sekunde — plötzlich mit normaler Geschwindigkeit und normaler Richtung davonzuschwimmen! Das gilt sowohl für die zu Beginn der Belichtung in der Reizzone anwesenden wie für die neu hinzukommenden Individuen. Hier haben wir also eine für photodynamische Stoffe bisher noch nicht bekannte Wirkung der Belichtung vor uns, die sich nicht in einer Änderung der Bewegungsrichtung, sondern in einer Änderung der Beweglichkeit äußert und damit zu der bei einer Anzahl von Mikroorganismen nachgewiesenen Photokinesis (14) in Parallele gesetzt werden kann. Ob, wie bei der induzierten Phototaxis auch hier weitergehende Ähnlichkeit der Reizketten besteht, vermag ich freilich nicht anzugeben¹⁾.

14. *2,7-anthrachinondisulfosaures Natron* ließ in Lösung 1:4000 keine merkliche photodynamische Wirkung erkennen, erst bei Erhöhung der

¹⁾ Ganz ähnliche Beobachtungen habe ich beiläufig auch an Paramaecien in Lösungen von Kongorot 1:4000 gemacht, so daß der oben geschilderte Fall induzierter Photokinesis nicht allein dastehen dürfte. Bei Kongorot sind die Erscheinungen leider nicht so gut reproduzierbar; den Ursachen der Schwankungen bin ich bisher nicht weiter nachgegangen.

Lichtintensität (Verwendung eines Objektivs Seibert IV als Kondensor) konnten schöne negative phototaktische Bewegungen beobachtet werden. Weitergehende Schädigungen der Objekte sind im Laufe der Versuche nicht festzustellen.

15. *Dichloranthracendisulfoaures Natron* wurde in Lösung 1 : 3000 und 1 : 4000 untersucht¹⁾. Im Dunkeln tritt, wie schon von *Tappeiner* und *Jodlbauer* (29) nachgewiesen wurde, keinerlei Schädigung auf; ich konnte sogar eine deutlich beschleunigte Schwimmgeschwindigkeit feststellen. Die photodynamische Wirkung ist außerordentlich stark, aber auf die äußersten blauen und violetten Strahlen beschränkt. Das Maximum der Absorption für die Lösung liegt im Ultraviolett, nach *Tappeiner* (28, S. 69) etwa bei 265 μ . Im weißen Licht (Vorlage Kupfersulfat zur Absorption der ultraroten Strahlen) werden die Paramaecien im offenen Tropfen fast blitzartig getötet. Etwas schwächer ist die Reaktion nach Vorschalten eines blauen Kobaltglases; im roten Licht (Kupferrubinscheibe) bleibt auch ohne das Wärmefilter die Wirkung aus. Die schwache Absorption blauer Strahlen einer etwas oxydierten Eisensulfatlösung (nach deren Vorschaltung das Strahlungsfeld noch ungefärbt erschien) genügte bereits, um die Wirkung für Paramaecium ganz erheblich abzuschwächen. Irgendwelche Reaktionen auf Belichtung waren nicht mehr nachzuweisen; nur die empfindlicheren Colpidien wurden noch, aber viel weniger rasch, zum Absterben gebracht. Daß auch Paramaecien noch beeinflusst werden, war erst durch die folgende merkwürdige Beobachtung nachzuweisen: Hat sich im weißen Licht hinter Kupfersulfatfilter bereits eine Anzahl toter Individuen im Strahlungsfeld versammelt und wird nun plötzlich das oben erwähnte Eisensulfatfilter an seiner Stelle vorgelegt, so erlischt die Wirksamkeit auf Paramaecien nicht völlig. In kürzester Zeit erfüllt sich das Strahlungsfeld mit einem dichten Gewimmel von Infusorien, die sich zwischen den toten Individuen hindurchwinden, allmählich ihre Schwimmgeschwindigkeit verlangsamen und schließlich auch zugrunde gehen. Die einmal in der Starklichtfalle angelangten Tiere verlassen sie nicht wieder, aber es sind auch keine einwandfreien positiv phobophototaktischen Reaktionen nachzuweisen. Dagegen scheinen die photodynamisch getöteten Paramaecien chemotaktisch zu wirken²⁾ (denn bei ihrer Abwesenheit bleibt die ganze Erscheinung aus) und die neu hinzukommenden Individuen durch das Festhalten im Strahlungsfeld der langsam verlaufenden photodynamischen Schädigung auszuliefern. — Negativ phototaktische Reaktionen habe ich nur in bedeckten Präparaten beobachtet, die unter Vorschaltung des Eisensulfatfilters beobachtet wurden. Bei den offenen Tropfen blieb jede Reaktion unter sonst gleichen Bedingungen aus, wie ich oben berichtete. Auch hier spielt offenbar der Sauerstoffgehalt des Mediums eine wesentliche Rolle.

16. *Phycoerythrin* wurde aus *Delesseria*, die ich von Helgoland erhielt, durch Auslaugen mit Brunnenwasser erhalten. Die stark fluoreszierende Lösung erwies sich als schwach photodynamisch aktiv. Zum Absterben

¹⁾ Diesen Körper wie das eben erwähnte Anthrachinonderivat verdanke ich dem Entgegenkommen Herrn Prof. *Neubergs*; alle anderen Farbstoffe sind von *Grübler* bezogen.

²⁾ Von *Barr* (2) ist neuerdings eine ganz analoge Erscheinung an Amöben beobachtet worden, die durch ultraviolette Strahlen cytolisiert waren. Solche Individuen übten infolge der austretenden Zelltrümmer auf andere intakte Amöben einen chemotaktischen Reiz aus.

der Tiere kam es nicht; dafür wurden in offenen Tropfen im weißen Licht vorübergehend schöne positiv phototaktische Ansammlungen beobachtet.

Die vorstehend kurz referierten Versuche lassen erkennen, daß bei fast allen stark photodynamisch wirksamen Farbstoffen unter geeigneten Bedingungen negativ phototaktische Reaktionen auftreten; positive Phototaxis wurde in offenen Tropfen nur bei schwach wirksamen Farbstoffen, sonst (entsprechend meinen früheren Beobachtungen) nur unter Deckglas gelegentlich beobachtet. Weitere Variation der Versuchsbedingungen dürfte wohl auch für die positiven Reaktionen allgemeinere Verbreitung erweisen; in den vorliegenden Versuchen wurde nur auf die Feststellung des Grades der Wirksamkeit im Hinblick auf die Spektralversuche Wert gelegt. Am wirksamsten und daher für meine Zwecke allein geeignet erwiesen sich somit: Eosin, Erythrosin, Rose bengale; Rhodamin B, Magdalarot¹⁾.

8. Das Wirkungsspektrum.

Zur Ermittlung der spektralen Verteilung der induzierten Lichtempfindlichkeit bediente ich mich wieder der schon in der zweiten Mitteilung genauer beschriebenen Versuchsanordnung, bei der ein kleines, möglichst lichtstarkes Spektrum im Präparat entworfen und durch das Mikroskopobjektiv auf einem nahen Projektionsschirm abgebildet wird. In der Regel wurde — wie früher — ein kleines Geradsichtspektroskop nach *Browning* in der Art des *Engelmannschen* Mikrospektralapparates verwandt. Das Spektrum hatte in der Objektebene in diesem Falle eine Breite von 1,2 mm und eine Länge von etwa 3 mm (rot bis violett). Zum Vergleich wurden aber auch Versuche mit einem entsprechend eingebauten kleinen Gitterspektroskop durchgeführt. Die Breite betrug dann 0,85 mm, die Länge des sichtbaren Spektrums war 3,2 mm. In beiden Fällen mußte natürlich mit maximaler Spaltbreite gearbeitet werden, um genügende Lichtstärke zu erreichen; bei dem bedeutend lichtschwächeren Gitterspektrum gaben auch dann noch nur die wirksamsten Farbstoffe brauchbare Resultate. Durch Messung der Beleuchtungsstärke auf dem Projektionsschirm wurden wieder Näherungswerte für die Helligkeit in der Objektebene ermittelt (vgl. 15, S. 148). Bei Belastung der Bogenlampe mit 4 Amp. ergaben sich für Gelb im Prismenspektrum rund 205000 MK, für das Gitterspektrum nur etwa 88500 MK. — Zur Bestimmung der Wirkungsmaxima wurde auf dem Projektionsschirm eine Skala angebracht, die auf bekannte Art und Weise geeicht werden kann. Infolge der beträchtlichen Spaltweite und der Asymmetrie des Spaltmechanismus tritt eine geringe

¹⁾ Das ebenfalls stark wirksame dichloranthracendisulfosaure Natrium konnte nicht berücksichtigt werden, weil die Absorption und ihre Verschiebungen im sichtbaren Teil des Spektrums nicht meßbar sind.

scheinbare Verschiebung ein, die bei der Eichung der Anordnung in Rechnung gezogen werden muß. Bei der Beurteilung des Verhaltens im Prismenspektrum ist ferner zu berücksichtigen, daß infolge der geringeren Dispersion im langwelligen Spektralgebiet eine Energieverteilung herrscht, die an sich schon eine geringe Verschiebung der Wirksamkeit nach der langwelligen Seite der Absorptionsbanden bedingen könnte; wegen des steilen Abfalls der Absorption in diesem Gebiete spielt dieser Umstand in den meisten Fällen keine merkbare Rolle, wie die Parallelversuche im Gitterspektrum noch überdies beweisen. Was sonst an Fehlerquellen in Frage kommen könnte — Einfluß der Absorption der Lösung und Verwischung der Grenzen der „Totenfelder“ infolge nicht plötzlicher Bewegungseinstellung — ist bereits in der vorhergehenden Mitteilung diskutiert worden (vgl. 15, S. 163). — Eine quantitative Messung des „Wirkungsspektrums“ ist mit der geschilderten Methodik freilich nicht möglich; die qualitative Feststellung gründet sich auf die Schätzung der verschiedenen Dichte der Totenfelder — bzw. die entsprechende Bewertung der Zonen negativ oder positiv phototaktischer Reaktionen —, also statistische Beobachtung. Bei der Feststellung des Wirkungsmaximums ist aber auch die Beobachtung einzelner von außen anschwimmender Individuen von Wichtigkeit. Das Absorptionsmaximum der Farbstofflösung ist in der Regel gleichzeitig sichtbar, so daß die Differenz zwischen ihm und dem Wirkungsmaximum leicht abgelesen werden kann. Außerdem wurde der genauere Verlauf der Absorptionskurve durch qualitative Messungen bei verschiedener Schichtdicke mit einem kleinen Spektrometer mit konstanter Ablenkung (Monochromator nach W. Voigt) ermittelt.

1. *Eosin*. Sowohl im Prismenspektrum als auch im Gitterspektrum konnten die früheren Beobachtungen über die beträchtliche Verschiebung des Wirkungsbereiches nach Rot hin bestätigt werden. Die Lösung besitzt ein breites Absorptionsband im Grün, das von etwa $450\ \mu\mu$ bis $550\ \mu\mu$ reicht. Das Hauptmaximum befindet sich bei $515\ \mu\mu$, ein zweites schwächeres bei $486\ \mu\mu$. Der Wirkungsbereich erstreckt sich im Prismenspektrum (1:4000) dagegen auf 585 bis $540\ \mu\mu$; im Gitterspektrum reichte die Intensität nicht dazu aus, *Paramecien* abzutöten; die infolge ihrer größeren spezifischen Oberfläche empfindlicheren *Colpidien* zeichneten einen Wirkungsbereich von 590 bis $520\ \mu\mu$ auf. Die *Paramecien* zeigten dafür in diesem ganzen Bereich schöne negativ phototaktische Reaktionen. Ein bestimmtes Maximum läßt sich in diesem Bereich schwer feststellen; die Totenfelder sind gegen Gelb hin schärfer begrenzt als am blauen Ende, so daß der Schwerpunkt bei etwa $560\ \mu\mu$ anzunehmen ist. Es ergäbe sich somit eine Rotverschiebung von mindestens $45\ \mu\mu$.

2. *Erythrosin*. Auch bei diesem Farbstoff ließen sich die früheren Beobachtungen durchaus bestätigen und erweitern. Das Absorptionsband zeigt hier drei Erhebungen (vgl. Abb. 1a): ein schwaches Maximum bei $558\ \mu\mu$, das Hauptmaximum bei $520\ \mu\mu$ und schließlich noch ein schwächeres

bei $480 \mu\mu$. In Lösungen 1 : 6000 erstreckten sich die Totenfelder im Prismenspektrum von 610 bis $490 \mu\mu$; Versuche im Gitterspektrum hatten fast das gleiche Ergebnis, ließen jedoch — wohl wegen der gleichmäßigeren Dispersion — erkennen, daß zwei besonders wirksame Stellen bestehen, zwischen denen sich eine Zone geringerer (aber immer noch erheblicher) Wirksamkeit befindet. Die eine breitere wirksame Zone findet sich bei etwa 600 bis $560 \mu\mu$, das zweite Maximum ist bei etwa $510 \mu\mu$ angedeutet. In Abb. 1b habe ich versucht, den Ausfall dieses Versuches annähernd graphisch wiederzugeben. Die erste Erhebung entspricht wohl den ersten beiden Maximis, die zweite dem dritten Absorptionsmaximum. Alle drei erscheinen demnach etwa um den gleichen Betrag von $40 \mu\mu$ nach Rot hin verschoben.

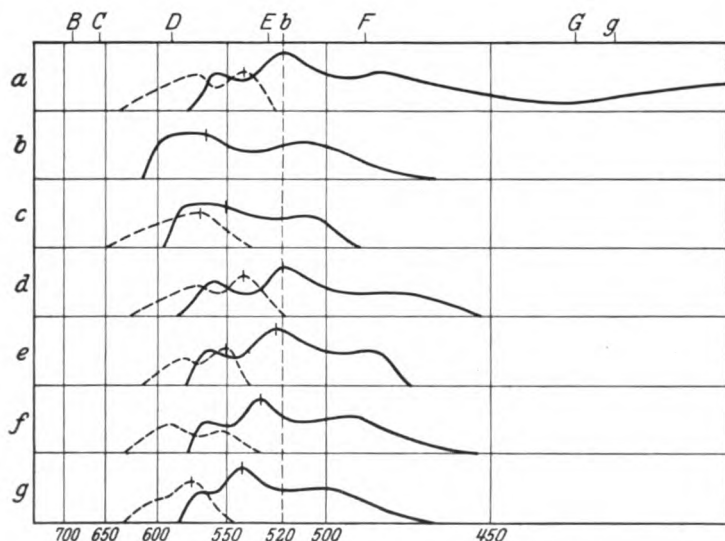


Abb. 1. Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Erythrocin.

Absorptionsspektren ausgezogen, Fluoreszenzspektren gestrichelt. Hauptmaxima jeweils durch kurze senkrechte Striche markiert. *a* = wässrige Lösung. *b* = Wirkungsspektrum. *c* = Absorption von Paramaecien. *d* = Eiweißlösung. *e* = Gelatinekeil. *f* = Caseinbrocken. *g* = Lecithin.

3. *Rose bengale* zeigt in wässriger Lösung ein gegen Gelb hin steil abfallendes Absorptionsband, dessen Hauptmaximum bei $545 \mu\mu$ gelegen ist; ein zweites schwächeres Absorptionsmaximum findet sich bei etwa $500 \mu\mu$. Im Prismenspektrum (1 : 6000) sterben Paramaecien und vor allem Colpidien zwischen 600 und $450 \mu\mu$; die stärkste Wirksamkeit liegt bei etwa $570 \mu\mu$. Ganz entsprechend zeigte sich im Gitterspektrum ein Wirkungsbereich von 580 bis $500 \mu\mu$ — ein deutliches Maximum ließ sich jedoch nicht einwandfrei feststellen. Dies sowie die geringere Ausdehnung der Wirkungszone ist natürlich auf die geringere Lichtintensität zurückzuführen; eine Steigerung der Farbstoffkonzentration erwies sich als nicht angängig, weil dann die Giftigkeit des Farbstoffes im Dunkeln schon die Bewegung der Infusorien beeinträchtigte. Die Rotverschiebung ist also auch hier beträchtlich; sie beträgt etwa $25 \mu\mu$.

4. *Rhodamin B*. Das Absorptionsspektrum ist in Abb. 2a wiedergegeben. Das gegen Gelb hin steil abfallende Hauptmaximum liegt bei $555\mu\mu$, daneben bestehen noch zwei flachere Erhebungen der Absorptionskurve bei 515 und $478\mu\mu$. Schon in der Starklichtfalle waren die Paramaecien nur wenig geschädigt worden; im Prismenspektrum reichte die Lichtstärke kaum aus, um klare Ergebnisse zu erhalten (1:4000). Die maximale Wirkung wurde bei $560\mu\mu$ beobachtet. Um die Lichtintensität zu steigern, wurde am Spektralapparat ein stärkeres Objektiv (Seibert IV) benutzt. Die Breite des Spektrums sank auf $0,55\text{ mm}$, die Länge betrug nur noch $1,5\text{ mm}$; die Helligkeit im Gelb schätzte ich auf etwa $900\,000\text{ MK}$. Nun zeigte sich ein Wirkungsbereich von 600 bis $475\mu\mu$ mit einem Maximum bei $560\mu\mu$ (Abb. 2b). Im Gitterspektrum ließ sich eine ausreichende Lichtstärke nicht erreichen. Immerhin zeigte sich doch, daß hier nur eine minimale Differenz ($\sim 5\mu\mu$) zwischen Absorptions- und Wirkungsmaximum bestehen kann.

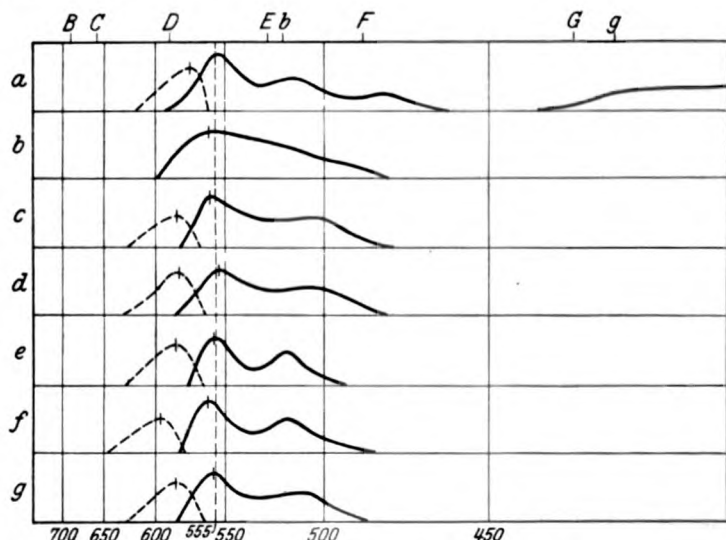


Abb. 2. Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Rhodamin B.

Absorptionsspektren ausgezogen, Fluoreszenzspektren gestrichelt. Hauptmaxima durch kurze senkrechte Striche markiert. a = wässrige Lösung. b = Wirkungsspektrum. c = Absorption und Fluoreszenz lebender Zellen. d = Eiweißlösung. e = Gelatinekeil. f = Caseinbrocken. g = Lecithin.

5. *Magdalarot*. Die Absorption steigt von $570\mu\mu$ allmählich zu einem relativ breiten Maximum bei $525\mu\mu$ an und sinkt dann nach Blau hin allmählich ab; eine ganz flache Erhebung der Absorptionskurve ist bei $480\mu\mu$ etwa vorhanden (Abb. 3a). Lösungen 1:4000 zeigten im Prismenspektrum ein Totenfeld, das von 590 bis $480\mu\mu$ reichte. Die größte Wirksamkeit zeigten Strahlen von 580 bis $565\mu\mu$; auch der Bereich um $510\mu\mu$ zeichnete sich durch sichtlich größere Wirksamkeit aus (vgl. Abb. 3b). Im Gitterspektrum erstreckte sich die wirksame Zone von 600 bis $470\mu\mu$, ohne daß sich ein bestimmtes Maximum nachweisen ließ. Der Betrag der Verschiebung ist zwar wegen des flachen Verlaufes der „Wirksamkeitskurve“

nicht genau zu ermitteln, dürfte sich aber nach den vorliegenden Beobachtungen auf mindestens 40 bis 50 $\mu\mu$ belaufen.

Die Paramaecien zeichnen also in *allen* untersuchten Farbstoffen ein Wirkungsspektrum auf, das offensichtlich dem Absorptionsspektrum der Lösung im Charakter gleicht, dabei aber mehr oder minder nach Rot hin verschoben ist. Daß feinere Abstufungen der Wirksamkeit nicht wiedergegeben wurden, ist durch die relative Größe der Organismen gegenüber dem Spektralband bedingt. — Die Resultate sind in Tabelle I nochmals übersichtlich zusammengestellt; auffallend ist gegenüber den relativ bedeutenden Verschiebungen bei Eosin, Erythrosin, Rose bengale und Magdalarot der minimale Unterschied bei Rhodamin B.

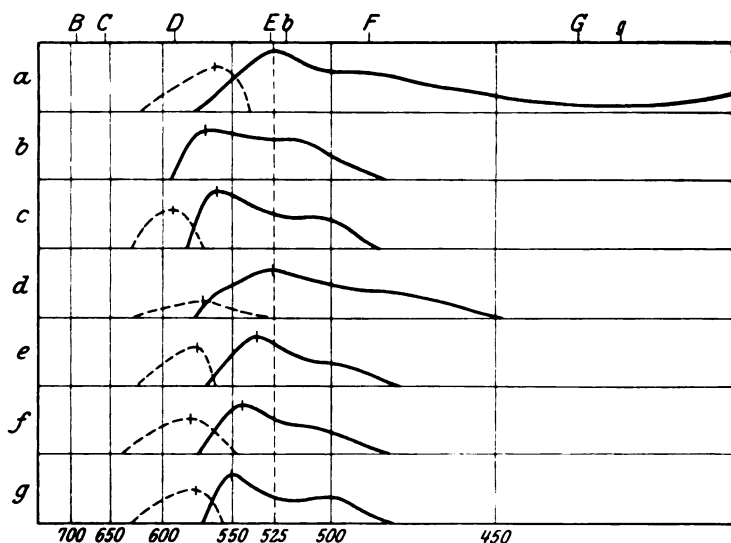


Abb. 3. Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Magdalarot.

Absorptionsspektren ausgezogen, Fluoreszenzspektren gestrichelt. Hauptmaxima jeweils durch kurze senkrechte Striche markiert. *a* = wässrige Lösung. *b* = Wirkungsspektrum. *c* = Absorption von Paramaecien. *d* = Eiweißlösung. *e* = Gelatinekeil. *f* = Caseinbrocken. *g* = Lecithin.

4. Die Absorption der Farbstoffe im Organismus.

Zur Prüfung der Annahme, daß die Verschiebung des Wirkungsmaximums auf die Bindung der Farbstoffe zurückzuführen ist, muß der Versuch gemacht werden, das Absorptionsspektrum der Farbstoffe im Plasma festzustellen. Das ist in der Regel sehr erschwert durch den Umstand, daß lebende, noch ungeschädigte Zellen auch bei längerer Versuchsdauer im mikroskopischen Bilde ungefärbt erscheinen, auch in dichteren Suspensionen (nach Zentrifugieren) makroskopisch kein deutliches Absorptionsband erkennen lassen. Dagegen wird die Plasmahaut nach Schädigung oder Absterben für die Farbstoffe permeabel,

Tabelle I.
Übersicht der Absorptionsverschiebungen.

	Eosin		Erythrosin		Rose bengale		Rhodamin B		Magenta-rot	
	Max. $\mu\mu$	Verschie- bung $\mu\mu$	1. Max. $\mu\mu$	Verschie- bung $\mu\mu$	Haupt- max. $\mu\mu$	Verschie- bung $\mu\mu$	Max. $\mu\mu$	Verschie- bung $\mu\mu$	Max. $\mu\mu$	Verschie- bung $\mu\mu$
Lösung	515	—	558	—	520	—	555	—	525	—
Wirkungsspektrum	560	45	600	40	560	40	560	5	565*)	40
Absorption im Plasma	540	25	590	32	560	30	568	3	555	30
Eiweiß	516	1	560	2	520	0	554	—	527	2
Gelatine	522	7	562	4	524	4	555	1	536	11
Casein	530	15	565	7	530	10	560	5	545	20
Leicithin	535	20	575	17	540	20	560	1	550	25
Wirkungsdifferenz	—	20	—	8	—	10	—	2	—	10

*) Minimalwert.

und die Zellen färben sich mehr oder minder rasch und dabei intensiv an. Es ist schon an sich wahrscheinlich, daß die adsorbierenden Stoffe des Protoplasten von den Adsorbenzien der intakten Plasmahaut nicht wesentlich verschieden sind, es hat sich aber auch direkt in später zu besprechenden Versuchen ergeben, daß beide Absorptionsspektren übereinstimmen müssen. Es können demnach die Befunde an solchen toten Individuen zum Vergleich herangezogen werden. Unter den untersuchten Farbstoffen zeigte, wie wir sahen, nur Rhodamin B deutliche Vitalfärbung.

Die Bestimmung des Absorptionsspektrums wurde an einzelnen Individuen bei schwacher und mittlerer Vergrößerung ausgeführt. Mir stand hierzu ein Mikrospektralokular nach Abbe mit symmetrischem Spalt und Wellenlängenskala zur Verfügung. Die Lage des Absorptionsmaximums wurde mit der gleichen Apparatur ebenfalls verglichen¹⁾.

1. *Eosin, gelblich.* Die Objekte wurden untersucht, nachdem sie durch starke Beleuchtung photodynamisch getötet waren und sich kräftig rot gefärbt hatten. Die Farbe solcher Individuen ist deutlich bläulich; im Mikrospektrum

¹⁾ Die in den Abb. 1 bis 3 enthaltenen Absorptionskurven und Fluoreszenzkurven sind, soweit sie nicht auf Messungen mit dem Spektrometer beruhen, nach dem subjektiven Eindruck gezeichnet, also nur qualitativ zu werten.

zeigt sich entsprechend eine deutliche Verschiebung des Absorptionsspektrums gegenüber dem der Lösung. Die Absorption reicht von 580 bis etwa 485 $\mu\mu$; das Hauptmaximum ist nunmehr bei 540 $\mu\mu$, das zweite, schwächere, findet sich bei etwa 505 $\mu\mu$. Das bedeutet eine Verschiebung von 25 $\mu\mu$ für das Hauptmaximum; die Verlagerung des zweiten ist annähernd von der gleichen Größe, wegen der Unsicherheit der Bestimmung der Maxima zahlenmäßig nicht genau anzugeben.

2. *Erythrosin*. Photodynamisch getötete Paramaecien färben sich sehr bald — am Hinterende beginnend — ziemlich dunkel und liefern dann ein Absorptionsspektrum von 590 bis etwa 480 $\mu\mu$, das deutlich zwei Maxima erkennen läßt (vgl. Abb. 1c). Das gegen Gelb hin scharf begrenzte stärkere Maximum — wieder den ersten beiden, hier nicht deutlich unterscheidbaren Maximis der Lösung entsprechend — reicht von 590 bis 550 $\mu\mu$, das zweite, weniger ausgeprägte, findet sich um etwa 505 $\mu\mu$. Die Verschiebung beträgt somit für die ersten beiden Absorptionsmaxima annähernd 30 $\mu\mu$, für das dritte vielleicht etwas weniger. Versuche mit Colpidien sowie mit Infusorien, die nach Abtötung mit *Juelscher* Lösung oder Osmiumsäure angefärbt wurden, führten zum gleichen Ergebnis.

3. *Rose bengale*. Die intensiv gefärbten Infusorien zeigten eine Absorption von 595 bis 475 $\mu\mu$, die dann bald in die dem ungefärbten Protoplasma angehörende Endabsorption im Blau übergeht. Deutliche Maxima zeigten sich bei 560 $\mu\mu$ (Hauptabsorption) und 515 $\mu\mu$. Die Rotverschiebung beträgt demnach 15 $\mu\mu$.

4. *Rhodamin B* färbt, wie bereits erwähnt, bereits lebende Infusorien; es handelt sich dabei — abweichend von den sonstigen Vitalfarbstoffen — um eine diffuse *Plasmafärbung* und nicht um eine Speicherung in Vakuolen oder Inhaltsstoffen. Die blaurot gefärbten und gut beweglichen Infusorien lieferten ein bei 570 $\mu\mu$ beginnendes Absorptionsspektrum mit einem ausgeprägten Maximum bei 558 $\mu\mu$; nach Blau hin nimmt die Absorption rasch ab und zeigt nur noch um 500 $\mu\mu$ herum ein undeutliches Maximum, dessen Lage nicht eindeutig bestimmt werden kann (vgl. Abb. 2c). Wir sehen, daß auch hier eine kaum merkliche Rotverschiebung der Hauptabsorption (etwa 3 $\mu\mu$) zu verzeichnen ist. Abgetötete Individuen ergeben keine Abweichung.

5. *Magdalarot*. Hier konnten wieder nur tote Infusorien untersucht werden. Die Absorption (vgl. Abb. 3c) reicht von 580 bis etwa 480 $\mu\mu$; das Hauptmaximum bei 555 $\mu\mu$ ist deutlich ausgeprägt, das zweite bei 500 $\mu\mu$ weniger deutlich. Die Rotverschiebung beträgt demnach 30 $\mu\mu$.

Es wurde weiterhin noch eine größere Anzahl von Farbstoffen untersucht, deren Wirkungsspektrum nicht bestimmt werden konnte (z. B. Uranin, Methylenblau und Cresylechtviolett). Stets ergab sich eine deutliche Rotverschiebung der Absorptionsbänder.

5. Die Absorptionsverschiebung organischer Körper.

Absorptionsverschiebungen sind bei Adsorptionsverbindungen fast stets vorhanden, aber in oft verschiedenem Ausmaß. Es bestand somit die Hoffnung, durch Vergleich mit dem Absorptionsspektrum ungefärbter „Zellbausteine“ genaueres über das Adsorbens der Plasmafärbung für die Farbstoffe zu ermitteln. Die wesentlichste Rolle im Protoplasma spielen zweifellos Proteine bzw. ihre Abbauprodukte und

Lipoide (besonders Phosphatide). Von Eiweißkörpern wurden Hühner-eiweiß, ferner Gelatine als Vertreter der tyrosinfreien, und Casein als Vertreter der glykokollfreien Proteine untersucht. Phosphatide ändern zwar bei der Extraktion ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften in weitgehendem Maße [vgl. z. B. *Hansteen-Cranner* (8)], doch lassen immerhin Versuche mit Owoleithin (*Grübler*) Rückschlüsse auf das Verhalten vitaler Phosphatide zu. Cholesterin, das als Vertreter phosphorfreier Lipoide herangezogen werden sollte, zeigte unter den vorliegenden Bedingungen keinerlei Adsorptionserscheinungen¹⁾.

Frische, mit 0,3proz. NaCl-Lösung hergestellte Eiweißlösungen sowie solche aus getrocknetem Hühnereiweiß wurden mit Farbstoff versetzt und in verschiedenen Schichtdicken mit dem Spektrometer ausgemessen.

Gelatine wurde in 10proz. Lösung mit den Farbstoffen versetzt; dann wurden zwischen zwei Objektträgern Farbstoffkeile hergestellt, die sofort nach Erstarren in gleicher Weise untersucht wurden. Konzentration der Farbstoffe 1 : 4000.

Casein und Lecithin wurden auf dem Objektträger mit den Farbstofflösungen zusammengebracht und nach Anfärbung der Brocken mikroskopisch mit dem Mikrospektralokular beobachtet. Trockene Eiweißpartikel und Gelatinestückchen wurden zum Vergleich gelegentlich ebenso behandelt.

Die Messungsergebnisse sind in Tabelle I und teilweise in Abb. 1 bis 3 (d, e, f, g) wiedergegeben, aus denen die Absorptionsverschiebungen und der Charakter der Absorptionskurven ersichtlich sind. In Abb. 1 bis 3 ist zur Orientierung der Ort des jeweiligen Hauptmaximums in wässriger Lösung durch eine senkrechte gestrichelte Linie angegeben. Ehe wir zur Besprechung der Ergebnisse übergehen, sollen erst die Resultate der Fluoreszenzversuche geschildert werden.

6. Die Fluoreszenz der Farbstoffe im Organismus.

Mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops lassen sich bekanntlich die geringsten Chlorophyllmengen in lebenden Zellen an ihrer charakteristischen Fluoreszenz erkennen. In eben derselben Weise mußte es gelingen, den Nachweis auch geringer Farbstoffspuren in der Zelle zu erbringen.

Ein Fluoreszenzmikroskop mit Quarzoptik stand mir allerdings nicht zur Verfügung; die im folgenden skizzierte Anordnung gestattet aber trotzdem völlig einwandfreie Beobachtungen, steht natürlich der

¹⁾ Der Umweg über Cholesterinlösungen in organischen Lösungsmitteln, der von *Overton* (20) und *Ruhland* (23) zur Ermittlung der Lipidlöslichkeit von Farbstoffen eingeschlagen wurde, entfernt sich zu sehr von den Bedingungen der biologischen Versuche und wurde deshalb vermieden.

Quarzausrüstung ein wenig an Empfindlichkeit nach. Als Lichtquelle benutze ich wiederum eine kleine Handregulierbogenlampe (Leitz), die mit 4 Amp. belastet wird. Für Fluoreszenzuntersuchungen werden die reichlich Ultraviolett liefernden Eisenkohlen verwendet. Die Strahlen passieren eine Filterkuvette, die aus drei Kobaltglasscheiben mit dazwischengelegten Gummiringen hergestellt ist; die beiden Abteilungen werden wie bei dem Filter nach *Lehmann* mit Kupfersulfat und einer Lösung von Nitrosodimethylanilin gefüllt. Die Konzentration der letzteren Lösung muß so ausprobiert werden, daß nur das äußerste Blau und Violett etwa von 430 bis 450 μ ab in das Mikroskop gelangt. In vielen Fällen kann mit völlig offenem Kondensor bei schwacher Vergrößerung gearbeitet werden. Die für das Auge störenden blauen Strahlen werden durch ein Euphosdeckglas oder eine im Okular eingebaute dunkle Gelbscheibe absorbiert, die beide den Charakter der in der langwelligen Hälfte des Spektrums gelegenen Fluoreszenzspektra nicht beeinträchtigen¹⁾. Bei ausreichender Fluoreszenzhelligkeit wird in den Kondensor mit Vorteil eine Zentralblende für Dunkelfeldbeleuchtung eingelegt. Störungen durch Fluoreszenz der Glasapparatur hatte ich nicht zu verzeichnen, weil ja das äußere Ultraviolett bereits vor dem Eintritt in das Mikroskop zum größten Teil absorbiert wird; die geringe noch vorhandene Glasfluoreszenz liegt an der Grenze zwischen Grün und Blau, also in einem Gebiete, das bei den vorliegenden Untersuchungen nicht in Betracht kommt. Gute Ergebnisse hatte ich ferner bei Dunkelfeldbeleuchtung mittels eines *Reichertschen* Spiegelkondensors, der sich hier wegen seiner geringen Glasdicke und kaum merklichen Fluoreszenz besonders eignet. Die Lage der Fluoreszenzbanden wurde auch hier mit dem Mikrospektralokular festgestellt. Die Fluoreszenzspektra der Lösungen wurden außerdem bei seitlicher Beleuchtung mit der eben beschriebenen Lichtquelle mit dem Spektrometer aufgenommen.

Zunächst wurde festgestellt, daß unbehandelte *Paramaecien* nicht merklich fluoreszieren; mit Quarzoptik und reiner Ultraviolettbeleuchtung ist nach *Prowazek* (21) auch nur eine blaue bis violette Fluoreszenz der Pellikula zu beobachten.

1. *Eosin*. Das ganze Gesichtsfeld erscheint in hellgrünlichgelbem Ton, in dem die *Paramaecien* sich als dunkle Ovale deutlich abheben. Der Grund dafür ist leicht einzusehen: während sonst die ganze Dicke der Flüssigkeitsschicht fluoresziert, füllen die Infusorien den Raum zwischen Objektträger und Deckglas fast aus; hier ist natürlich auch die Fluoreszenzhelligkeit geringer, ein Umstand, der durch Kontrastwirkung noch mehr hervorgehoben wird. Wird das Okular durch das Spektralokular ersetzt, so sieht

¹⁾ Sämtliche Beobachtungen wurden auf gewöhnlichen Glasobjektträgern und unter Deckglas ausgeführt.

man bei scharfer Einstellung deutlich das Fluoreszenzband des Farbstoffs (von etwa 550 bis 520 $\mu\mu$, Maximum bei 535 $\mu\mu$). Ab und zu huschen dunkle Schatten vorbei, wenn Paramaecien vor dem Spalt vorüberschwimmen. Mit gut ausgeruhtem Auge erkennt man, daß diese „Schatten“ nicht völlig dunkel sind, sondern ebenfalls — doch recht schwach — das Fluoreszenzband erkennen lassen. Über die Lage des Maximums konnte ich in diesem Falle jedoch nichts Sicheres ermitteln.

2. *Erythrosin*. Auch hier erscheinen die Organismen dunkel auf rein grünem Grunde. Sofort nach Herstellung des Präparates läßt sich mit dem Spektralokular feststellen, daß die den Spalt kreuzenden Individuen eine deutliche Fluoreszenz besitzen, die — und das ist wichtig — nachweisbar nach Rot hin verschoben erscheint. Während das Fluoreszenzband der Lösung sich von 600 bis 530 $\mu\mu$ mit einem deutlichen Maximum bei 540 $\mu\mu$ erstreckt¹⁾, reicht die Fluoreszenz der Infusorien von 650 bis 530 $\mu\mu$. Das Maximum liegt bei etwa 570 $\mu\mu$. Dieser Befund läßt sich besonders gut bei thigmotaktisch still liegenden Individuen erheben und ist bei der geringen Intensität der Erscheinung nur durch das Aneinandergrenzen der Spektren von Lösung und Organismus ermöglicht. Das nach Rot hin verlagerte Fluoreszenzband kann aber nur von dem im lebenden Organismus gebundenen Farbstoff herrühren. (Im weißen Licht sehen die gleichen Objekte natürlich farblos aus; es handelt sich hier um ganz minimale Spuren.) Weiterhin aber läßt sich feststellen, daß die Intensität der Fluoreszenz nicht überall die gleiche ist. Die Konturen, besonders das Vorder- und Hinterende, zeigen die Fluoreszenz am deutlichsten. Das läßt mindestens darauf schließen, daß die Farbstoffkonzentration an der Grenzfläche — also in der Plasmahaut — am ansehnlichsten ist, und deutet weiter darauf hin, daß die Permeabilitätsverhältnisse an den Körperpolen von der übrigen Oberfläche abweichen²⁾. — Absterbende Individuen färben sich durchweg an und zeigen dementsprechend dann schon bei okularer Beobachtung deutliche Fluoreszenz, deren Rotverschiebung sich durch eine entschieden gelbliche Nüance verrät. Spektroskopische Prüfung ergibt — soweit das bei der Schwierigkeit der Untersuchung feststellbar ist — völlige Übereinstimmung mit dem Befund an lebenden Paramaecien. Nach Überführung in reines Wasser ist die Fluoreszenz an lebenden Infusorien nicht mehr merklich, der in die Zelle aufgenommene Farbstoff muß demnach rasch wieder abgegeben werden. Tote Individuen lassen keine Abnahme erkennen.

3. *Rose bengale* zeigt keine Besonderheiten. Das Fluoreszenzspektrum lebender Paramazien ist wie bei Eosin nicht mit Sicherheit zu beobachten. Die Fluoreszenz toter — ziemlich kräftig gefärbter — Individuen besitzt ihr Maximum bei 580 $\mu\mu$, ist also auch gegen das Fluoreszenzspektrum der Lösung (Maximum bei 570 $\mu\mu$) verschoben.

4. *Rhodamin B* liefert sehr auffallende Bilder. Die Lösung selbst fluoresziert nur ganz schwach bräunlich. (Im Spektrum sieht man ein

¹⁾ Bei der Ausmessung mit dem Spektrometer ließen sich zwei getrennte Maxima (bei 570 und bei 540 $\mu\mu$) nachweisen. Im Mikrospektralokular erscheint das Fluoreszenzband unsymmetrisch; das erste Maximum ist weniger ausgeprägt. Die Fluoreszenz der Paramaecien läßt mit Sicherheit nur ein Maximum erkennen (vgl. Abb. 1a, 1c).

²⁾ Ähnliche Verhältnisse sind auch von anderen Objekten — z. B. Opalina und Fadenalgen — bekannt (vgl. Mengarini und Scala S. 16).

ziemlich scharf begrenztes Fluoreszenzband von 615 bis 515 $\mu\mu$ mit der größten Helligkeit bei 575 $\mu\mu$.) Von diesem Hintergrunde heben sich die normal umherschwimmenden Infusorien in diffuser kräftig gelbroter Färbung wirkungsvoll ab. Bei der Untersuchung des Spektrums findet man ein helles Band von 630 bis 570 $\mu\mu$, das Maximum bei etwa 580 bis 585 $\mu\mu$.

5. *Magdalarot*. Hier liegen die Verhältnisse wegen der Lage und Schärfe des Fluoreszenzbandes besonders günstig. Die Lösung (1 : 2000) fluoresziert in dünner Schicht nur schwach, in dickerer Schicht kräftig gelb (610 bis 535 $\mu\mu$; Maximum 560 $\mu\mu$). Tote Infusorien färben sich rasch an und leuchten dann rötlichgelb. Mit dem Spektralokular findet man ein stark nach Rot verschobenes Fluoreszenzband (630 bis 570 $\mu\mu$; das Maximum bei 600 $\mu\mu$). Nach einiger Übung gelingt es, dasselbe Spektrum bei absterbenden (also sich eben anfärbenden) und schließlich auch bei normalen *Paramecien* — besonders in dicht bevölkerten Präparaten — zu beobachten. Die Fluoreszenz toter und lebender Zellen ist auch hier die gleiche. Ausgewaschene (lebende) Infusorien zeigen auch hier keine nachweisbare Fluoreszenz mehr.

Von den außerdem untersuchten Farbstoffen seien nur einige Beispiele erwähnt:

6. *Uranin*. Die Lösung fluoresziert außerordentlich hell (620 bis 500 $\mu\mu$, Maximum 520 bis 515 $\mu\mu$). Lebende Infusorien erscheinen völlig dunkel, nur tote (in der Durchsicht gelb gefärbte) Individuen fluoreszieren merklich und zeigen auch eine Rotverschiebung (600 bis 520 $\mu\mu$, Maximum bei 530 $\mu\mu$).

7. *Neutralrot*. Dieser bekannte Vitalfarbstoff wird zwar in der Hauptsache in den Nahrungsvakuolen gespeichert, ist aber auch — wie die Fluoreszenzanalyse lehrt — im Plasma vorhanden. Die Fluoreszenz ist recht schwach (etwa 630 bis 580 $\mu\mu$), so daß Einzelheiten nicht zu beobachten sind. Es zeigt sich aber auch hier, daß die Pellikula und die Plasmabezirke an den Körperpolen stärker fluoreszieren als das übrige Plasma.

8. *Cresylechtviolett* ist ebenfalls Vitalfarbstoff; schon im weißen Licht erscheinen die *Paramecien* deutlich diffus blau gefärbt. Bei genauerem Zusehen findet man, daß der Kern ungefärbt bleibt und die Körperpole sich abweichend (schwach rötlich) färben. Das Fluoreszenzspektrum der normal schwimmenden Infusorien ist ein schmales Band im Rot (650 bis 510 $\mu\mu$; Maximum etwa 630 $\mu\mu$); die Fluoreszenz der Lösung ist kaum merklich (640 bis 600 $\mu\mu$, Maximum 620 $\mu\mu$). Trotz der anscheinend gleichmäßigen Färbung ist auch hier eine deutlich stärkere Fluoreszenz der peripheren Zellpartien zu beobachten.

7. Die Fluoreszenzverschiebung organischer Körper.

Zum Vergleich mit der Differenz der Fluoreszenzspektren, die ich bei allen Farbstoffen im vorhergehenden Abschnitt zeigte, wurden nun auch die Adsorptionsverbindungen mit Eiweiß, Gelatine, Casein und Lecithin auf ihre Fluoreszenzfähigkeit hin untersucht.

Eiweißlösungen und Gelatinekeile (vgl. Abschnitt 5) wurden wieder mit dem Spektrometer ausgemessen.

Casein, Lecithin und gelegentlich Eiweißbrocken wurden mit der oben beschriebenen Fluoreszenzapparatur untersucht.

Tabelle II.
Übersicht der Fluoreszenzverschiebungen.

	Eosin		Erythrosin			Rose bengale		Rhodamin B		Maggdalarot	
	Max.	Verschiebung $\mu\mu$	1. Max.	Verschiebung $\mu\mu$	Hauptmax. $\mu\mu$	Verschiebung $\mu\mu$	Max. $\mu\mu$	Verschiebung $\mu\mu$	Max. $\mu\mu$	Verschiebung $\mu\mu$	Max. $\mu\mu$
Lösung	535	—	570	—	540	—	570	—	575	—	560
Paramaecien, lebend	?	—	—	?	570	30	?	—	582	—	600
Paramaecien, tot	575	40	—	?	570	30	580	7	582	7	600
Eiweiß	555	20	570	0	540	0	593	23	580	5	573
Gelatine	560	25	583	13	550	10	578	8	584	9	575
Casein	580	45	590	20	555?	15	590	20	595	20	580
Lecithin	580	45	600?	30	575	35	580	10	583	8	575

Die Ergebnisse sind mit denen des vorhergehenden Abschnittes in Tabelle II vereinigt, wo neben der Angabe der Fluoreszenzmaxima die Fluoreszenzverschiebung angegeben ist. Außerdem sind auch auf den Abb. I bis 3 die Fluoreszenzspektren (gestrichelt) eingetragen worden.

Besondere Erwähnung verdienen schließlich nur noch die Versuche mit *Lecithin*. — Dieses Phosphatid bildet in Berührung mit wässrigen Lösungen mannigfaltige Myelinformen, die an sich schon ziemlich stark (bei meinem Präparat allerdings ungleichmäßig) hellgrünlich fluoreszieren. *Lecithin* färbt sich mit fast allen Farbstoffen kräftig an und bietet dann im Fluoreszenzmikroskop ein ungemein farbenprächtiges Bild. In Eosin erscheinen z. B. die Myelinformen leuchtend gelb bis rot — ungefärbte grünlich bis blau — auf mattgrünem Grunde. Besonders intensiv und gleichmäßig ist die Anfärbung mit Rhodamin B: Myelinformen blaurot mit orangefarbener Fluoreszenz. Trotz der breiten — von Rot bis ins Blau reichenden — Eigenfluoreszenz heben sich die Fluoreszenzbänder der adsorbierten Farbstoffe gut heraus.

Auch Casein besitzt schwache Eigenfluoreszenz, die sich von Rot bis Grün erstreckt mit einem flachen Maximum bei etwa 530 $\mu\mu$. Ein Verdecken der viel intensiveren Fluoreszenzbanden der Farbstoffe war nicht zu beobachten.

8. Diskussion der Ergebnisse.

Bei einem Vergleich der vorstehend geschilderten Beobachtungen läßt sich eine Anzahl wichtiger Tatsachen feststellen. Wir sehen, daß ebenso wie

die Absorption, so auch die Fluoreszenz bei der Adsorption der Farbstoffe an Kolloide eine Verschiebung erfährt, daß eine solche Fluoreszenzverschiebung aber auch *bei lebenden Paramaecien* in der Farbstofflösung auftritt. Damit ist der direkte Nachweis geführt, daß der Farbstoff in die Zelle eintritt und dort gebunden wird. Diese Farbstoffaufnahme ist entweder reversibel — wie bei Erythrosin, Magdalarot, und dann hauptsächlich auf die peripheren Zellregionen (hauptsächlich die Plasmahaut) beschränkt — oder aber es tritt eine diffuse Vitalfärbung des Plasmas ein, die — wenn überhaupt — nur äußerst langsam in reinem Wasser zurückgeht. Im ersten Falle haben wir es wohl mit einem reinen *Adsorptionsvorgang* zu tun, bei dem das Gleichgewicht sehr rasch erreicht wird — die Infusorien fluoreszieren nach stundenlangem Aufenthalt in der Farbstofflösung nicht stärker als unmittelbar nach der Herstellung des Präparates, solange sie ungeschädigt bleiben. Die deutlich langsamer verlaufende Vitalfärbung ist dagegen als *Sorption* im Sinne von *Mc Bain*¹⁾ aufzufassen, also ein Vorgang, für dessen Verlauf neben der Adsorption an der Organoberfläche auch die Diffusionsverhältnisse — eventuell chemische Reaktionen mit dem Adsorbens — maßgebend sind. Auch hier wird natürlich schließlich ein Gleichgewichtszustand erreicht²⁾. Die diffuse Anfärbung absterbender oder toter Individuen muß ebenfalls als Sorption bezeichnet werden. Über die Alternative, ob Adsorption oder Sorption eintritt, entscheiden natürlich die Eigenschaften der Plasmahaut.

Die *Konzentration* der photodynamisch wirksamen Farbstoffe in der Plasmahaut ist aus der Helligkeit des Fluoreszenzspektrums nicht ohne weiteres zu erschließen, weil die Dicke der farbstoffhaltigen Schicht nicht bekannt ist. Selbst recht schwache Fluoreszenz kann unter Umständen einer erheblichen Konzentration entsprechen. Es ist gut vorstellbar, daß in extremen Fällen eine einzige Molekülschicht mit eingelagertem Farbstoff intensive Lichtwirkungen vermittelt.

Da sich die Fluoreszenz lebender und toter Zellen — abgesehen von der Intensität — als gleich herausstellt (s. Tabelle II), ist für das Absorptionsspektrum das nämliche anzunehmen auch in den Fällen, wo der direkte Nachweis nicht geführt werden kann. Die Absorptionskurven (und ebenso die Fluoreszenzkurven) entsprechen in ihrem Verlauf etwa denen der wässrigen Lösungen, sind aber beträchtlich nach Rot hin verschoben; nur Rhodamin B zeigt eine auffallend geringe Differenz. Vergleichen wir damit die entsprechenden Spektren der Proteine, so finden wir, daß Hühnereiweiß und Gelatine stets ab-

¹⁾ Vgl. *Freundlich* (6), S. 148, 230.

²⁾ Auf die besonderen Verhältnisse bei den Vitalfarbstoffen, die in Vakuolen bzw. Zellsaft gespeichert werden (z. B. Methylenblau, Neutralrot) sei hiermit nur hingewiesen.

weichende, oft auffallend geringe Absorptionsverschiebungen aufweisen. Die Fluoreszenzverschiebungen stimmen ebenfalls nicht mit den am Organismus beobachteten überein. Nur bei Rhodamin B ist das nicht so deutlich, weil dieser Farbstoff an und für sich nur minimale Verschiebungen zeigt; es spielen dann die unvermeidlichen subjektiven Beobachtungsfehler schon eine wesentliche Rolle. Casein nähert sich in seinen Absorptionsverschiebungen mehr den biologischen Objekten, freilich bleiben auch hier immer noch Unterschiede, die die Beobachtungsfehler weit übertreffen, besonders wenn man die Absorption und Fluoreszenz der adsorbierten Farbstoffe vergleicht. Dagegen findet man durchweg gute, wenn auch nicht völlige Übereinstimmung bei der Gegenüberstellung sowohl der Absorptions- als auch der Fluoreszenzspektren von *Lecithin* mit denjenigen der *Paramaecien*¹⁾. Ich habe bereits darauf aufmerksam gemacht, daß das benutzte Lecithinpräparat nicht mit den Phosphatiden der lebenden Zelle zu identifizieren ist, doch scheinen mir die Befunde mit großer Wahrscheinlichkeit dafür zu sprechen, daß die Farbstoffe in der Zelle hauptsächlich von den *Phosphatiden gebunden* werden. Die Wichtigkeit der Phosphatide für den Stoffwechsel und die Reizvorgänge ist besonders von *Hansteen-Cranner* (8) hervorgehoben worden. Für unser Problem ist es wesentlich, daß die Plasmahaut hauptsächlich — wenn nicht ausschließlich — aus einem Gemisch hydrophilkolloidaler Phosphatide besteht. Infolge ihrer Labilität und der in vitro beobachteten leichten Oxydierbarkeit könnten diese Körper gleichzeitig als Substrat der photodynamisch katalysierten Oxydationen fungieren.

Es ist schwerlich anzunehmen, daß ein bestimmtes chemisches Individuum allein als Adsorbens in dem Protoplasten auftritt — in der Regel werden sich mehrere Stoffe in den aufgenommenen Farbstoff teilen. Die Auswahl ist allerdings beschränkt. Falls sich Proteine beteiligen, dürften nach dem Ausfall der Spektralversuche tyrosinfreie Körper kaum in Frage kommen (auch das Ovalbumin enthält nur 1,1 Proz. Tyrosin und Spuren von Tryptophan). Viel eher muß man an tyrosinhaltige Proteine oder freies Tyrosin denken (Casein enthält etwa 4,5 Proz. Tyrosin und 2 Proz. Tryptophan). Das ist von größter Wichtigkeit, weil von verschiedenen Seiten die biologische Bedeutung des Tyrosins hervorgehoben wird. *Neuberg* (17) erhielt durch Belichtung von l-Tyrosin mit einem Uransalz als Katalysator einen Körper, der heiße *Fehlingsche* Lösung reduziert, und betont „die überall zutage tretende Tendenz

¹⁾ Besonders deutlich ist diese Übereinstimmung an den Fluoreszenzspektren von Erythrosin (siehe Abb. 1c, 1g); während in wässrigen Lösungen sowie in Eiweiß, Gelatine und Casein deutlich zwei getrennte Fluoreszenzmaxima vorhanden sind, ist das erste bei *Lecithin* kaum angedeutet, und auch bei angefärbten Zellen habe ich es nicht auffinden können.

des Lichtes, aus zahlreichen indifferenten Stoffen des Tier- und Pflanzenorganismus carbonylhaltige Substanzen, Aldehyd- und Ketoverbindungen zu erzeugen, deren Reaktionslust und Befähigung zu den wichtigsten Synthesen allbekannt ist“ (l. c., S. 315). Derartige Lichtreaktionen können auch im Organismus vor sich gehen, sofern geeignete Katalysatoren vorhanden sind¹⁾. Melaninbildung durch Oxydation von Tyrosin ist z. B. nicht nur beim Menschen, sondern auch bei wirbellosen Tieren in einzelnen Fällen (Lamellibranchier) nach *List* (12) von Belichtung abhängig. *Hintzelmann* (9) spricht auf Grund des verbreiteten Vorkommens von Melanin oder ähnlichen Pigmenten in tierischen Lichtsinnesorganen sogar die Ansicht aus, daß die Lichtempfindlichkeit allgemein an das Vorhandensein von Tyrosin oder Spaltprodukten desselben gebunden sei. Die Rolle der Sensibilisatoren für das Tyrosin könnte in den Grenzsichten der Zelle schließlich auch durch die fluoreszierenden Farbstoffe übernommen werden. Nach *Robertson* (22, S. 126) müßten wir in diesem Falle aber unter Umständen mit chemischer — also wohl irreversibler — Bindung der Farbstoffe zu rechnen haben.

Von diesem Gesichtspunkte aus läßt sich eine öfters beobachtete, aber stets mißdeutete Erscheinung verstehen. *Busck* (5) und später *Shellards* (26) gaben an, daß Zugabe von Blutserum oder Hühnereiweiß die hämolysierende Wirkung photodynamischer Farbstoffe aufheben kann, daß Glucose, Stärke, Gelatine aber keine Hemmung hervorbringen. *Busck* meint, daß die entstehende Farbstoffeiweißverbindung inaktiv sei, und *Noack* (18, S. 321) knüpft daran die Bemerkung, daß infolge der Bildung solcher Komplexe die in die Zelle aufgenommenen Farbstoffe unwirksam werden könnten. *Gicklhorn* (7), der ähnliches Unwirksamwerden von Farbstofflösungen beobachtete, meinte, die gelösten Schutzstoffe (hier Zersetzungsprodukte abgestorbener Pflanzen) adsorbieren Gifte — etwa Spaltungsprodukte der Farbstoffe, — die bei der Belichtung entstehen. *Schmidt* und *Normann* (25) sind der auffälligen Tatsache nachgegangen, daß Gelatine unwirksam ist, während Serum Schutzwirkung besitzt. Es stellte sich heraus, daß diese hämolysehemmende Wirkung allen tyrosinhaltigen Eiweißkörpern zukommt, und systematische Versuche mit Aminosäuren bestätigten die Vermutung, daß der Effekt lediglich auf Tyrosin und Tryptophan be-

¹⁾ Als Sensibilisatoren könnten z. B. Spuren von Eisenverbindungen fungieren, die im Protoplasma wohl stets auftreten, und die nach den Erfahrungen *Neubergs* (vgl. diese Zeitschr. 27, 271, 1910; 29, 279, 1910) auch in vitro ausgiebige photokatalytische Wirkung entfalten. Eine experimentelle Prüfung stößt allerdings auf Schwierigkeiten, da metallische Katalysatoren auf Organismen im allgemeinen nicht „photodynamisch“ wirken [vgl. *Noack* (18), S. 342].

schränkt ist. Diese aromatischen Aminosäuren absorbieren im Ultraviolett, und die Autoren stellen sich vor, daß die Schutzwirkung mit der Fähigkeit zusammenhängt, „aktive Strahlen“ zu absorbieren und so deren Absorption durch die Blutkörperchen zu verhindern. Sie schließen weiter, daß die photodynamische Beeinflußbarkeit der Zellen eben ihrem Tyrosingehalt zu verdanken sei, weil dies ja dann in der Zelle die wirksamen Strahlen absorbiert. Die Vorstellungen über die Bedeutung der ultravioletten Absorption sind für unsere Fragestellung sicher falsch, denn die Hämolyse findet auch bei Ausschluß ultravioletter Strahlen statt [vgl. *Tappeiner* (27), S. 5] und wird bei genauer Untersuchung wohl ebenfalls am stärksten im Bereiche der sichtbaren Absorptionsbanden der Farbstoffe verlaufen. Ich vermute einen anderen Zusammenhang: Die Farbeiweißverbindungen sind nämlich, wie *Schanz* (24, S. 659) gezeigt hat, selbst lichtempfindlich und zeigen z. B. Änderungen der Flockungsfähigkeit. Infolge der großen spezifischen Oberfläche des kolloidalen Systems wird dann in der Zellsuspension der vorhandene *Sauerstoff* zum größten Teil *in der Lösung selbst gebunden* werden, und an der Oberfläche der Organismen können sich nur geringfügige Reaktionen abspielen, obwohl der Farbstoff auch hier vorhanden ist. Der Effekt ist also der gleiche wie etwa in den Versuchen *Noacks* (18), in denen der Sauerstoff von Sulfid „abgefangen“ wird¹⁾, oder in den von mir früher geschilderten Beobachtungen über die Hemmung der biologischen Wirkung leicht bleichender Farbstoffe bei geringer Sauerstoffkonzentration (14, S. 43). Die verhältnismäßig geringe Wirkung der Vitalfarbstoffe läßt sich vielleicht in ähnlicher Weise verstehen. Nur die Oberfläche der Organismen kommt ja mit freiem Sauerstoff — der die intensivste Wirkung zeitigt — in Berührung; die im Innern des Protoplasten gespeicherten Farbstoffe befinden sich dagegen in relativ sauerstoffarmer Umgebung und können — selbst wenn sie in aktionsfähiger Bindung sind — nicht zur Wirkung kommen. Das gleiche gilt in noch höherem Maße für die in Vakuolen gespeicherten Farbstoffe (etwa Neutralrot, Methylenblau).

Die besondere Schutzwirkung von Tyrosin und tyrosinhaltigen Proteinen dürfte nach dem Gesagten wohl auf die leichte Oxydierbarkeit zurückzuführen sein. Die Fähigkeit dieser Körper, Farbeiweiße

¹⁾ Hemmung der photodynamischen Wirkung muß schließlich bei allen solchen Zusätzen auftreten, die — wie Sulfid — auch *in die Zelle* eindringen und dort an Ort und Stelle den aktiven Sauerstoff aufnehmen können, ohne selbst lichtempfindlich zu werden. Die Angaben von *Schmidt* und *Normann*, daß Gallussäure, Pyrogallol, Resorcin ebenfalls starke Hemmung bewirken, mögen als Beleg hierzu dienen. (Auch hier wurde die Schutzwirkung fälschlicherweise auf ultraviolette Absorption der Zusätze zurückgeführt.)

zu bilden, trägt offenbar ebenfalls dazu bei. Auch von diesem Standpunkte aus liegt der Schluß nahe, daß eine *Bindung der Farbstoffe an Tyrosin* in der Zelle bei Sauerstoffzufuhr zu kräftigen intraplastischen Lichtreaktionen führen muß. Ich betone aber nochmals, daß der Ausfall der spektroskopischen Prüfung eine Beteiligung von Tyrosin zwar nicht ausschloß, doch deutlich für eine *vorwiegende Adsorption durch Phosphatide* sprach.

Betrachten wir nunmehr die *Wirkungsspektren* (Abb. 1 bis 3b). Sie konnten zwar nur in roher Annäherung ermittelt werden, doch läßt sich überall sehen, daß der Verlauf der Wirkungskurve fast genau der Absorptionskurve des Farbstoffes im Protoplasma entspricht. Wir dürfen deshalb wohl vermuten, daß eine quantitative Untersuchung zu dem gleichen Ergebnis führen würde wie die entsprechenden Arbeiten von *Warburg* und *Negelein* (30) zum Assimilationsproblem — daß nämlich *für den Erfolg lediglich die Anzahl der absorbierten Lichtquanten* (unabhängig von der Wellenlänge) *maßgebend* ist.

Weiterhin ist aber unverkennbar, daß in allen Fällen das Wirkungsmaximum auch gegen das Absorptionsmaximum um einen Betrag nach Rot hin verschoben ist. Diese „*Wirkungsdifferenz*“ ist am größten bei Eosin, dessen Absorptionsverschiebung auch den höchsten Betrag erreicht. Rhodamin B, dessen Absorptionsspektren sich nur unwesentlich verschieben, zeigt auch die geringste Wirkungsdifferenz.

Früher hatte ich vermutet, daß die Paramaecien im Starklichtspektrum ihre eigene Absorption aufzeichnen. Die hier wiedergegebenen Erfahrungen zeigen aber, daß sich die beobachtete *Verschiebung aus zwei Komponenten* zusammensetzt: der *Absorptionsverschiebung* im Plasma — die wohl auf gleiche Weise zustande kommt wie die Absorptionsverschiebungen an anderen Adsorbentien oder in Lösungsmitteln — und der *Wirkungsdifferenz*, die nur auf physikalische Vorgänge während der Lichtwirkung zurückgeführt werden kann.

Eine Deutung dieser merkwürdigen Erscheinung wird in anderem Zusammenhang versucht werden. Hier möchte ich nur darauf hinweisen, daß auch an sensibilisierten photographischen Schichten von *J. J. Acworth* (1) eine Differenz zwischen dem Empfindlichkeitsmaximum und dem Absorptionsmaximum des angefärbten Bromsilbers beobachtet worden ist.

Aus dem Vorstehenden geht mit Sicherheit hervor, daß die für die photodynamische Erscheinung charakteristischen Effekte nur auf „*Innenwirkung*“ beruhen. Damit ist für meine Ansicht, daß die induzierten Reizbewegungen (Phototaxis und Phototropismus) den normalen photobiologischen Reaktionen analog verlaufen, eine neue Stütze gewonnen. Scheint es doch sogar möglich, daß der Angriffspunkt der

Farbstoffe im Protoplasma — seien es nun Phosphatide oder tyrosinhaltige Proteine — mit dem Substrat der Lichtwirkung in normalen Zellen übereinstimmt.

Zusammenfassung.

Bei allen untersuchten photodynamisch aktiven Farbstoffen treten unter geeigneten Bedingungen negative, seltener positive phototaktische Reaktionen auf. Bei Cresylechtviolett ist induzierte Photokinesis zu beobachten.

Es zeigt sich, daß der wirksame Anteil der Farbstoffe in allen Fällen in mehr oder weniger reversibler (adsorptiver) Bindung in die Plasmahaut eintritt und dort ein nachweisbar von der Lösung verschiedenes Spektrum besitzt.

Sowohl Absorptions- als auch das Fluoreszenzspektrum sind je nach Art des Farbstoffes mehr oder weniger weit nach dem roten Ende des Spektrums hin verschoben.

Die Besonderheiten der Absorption und Fluoreszenz der Farbstoffe im lebenden Organismus machen wahrscheinlich, daß die Bindung hauptsächlich an Phosphatide, vielleicht auch an Tyrosin oder tyrosinhaltige Proteine erfolgt.

Das Wirkungsspektrum ist ebenfalls nach Rot hin verschoben; die Verlagerung erfolgt also im gleichen Sinne wie die Absorptionsverschiebung.

Wirkungsspektrum und Absorptionsspektrum verlaufen annähernd proportional, decken sich jedoch nicht ganz.

Das Wirkungsspektrum weist vielmehr konstant eine noch weitere Verlagerung nach dem roten Ende zu auf. Die Ursache dieser „Wirkungsdifferenz“ soll erst später diskutiert werden.

Die photodynamische Erscheinung beruht also auf Innenwirkung, und die hierdurch hervorgerufenen Reizerfolge sind den Lichtwirkungen auf lichtempfindliche Zellen verwandt.

Literatur.

- 1) J. J. Acworth, Eders photogr. Jahrb. 1890, S. 219. — 2) C. E. Barr, A stimulating effect of the photolytic products of protoplasm. Journ. of med. research. 44, 79, 1923. — 3) H. Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin, 3. Aufl., 1920. — 4) E. Bolte, Über die Wirkung von Licht und Kohlensäure auf die Beweglichkeit grüner und farblos Schwärmzellen. Jahrb. wiss. Bot. 59, 287, 1920. — 5) G. Busck, diese Zeitschr. 1, 424, 1906. — 6) H. Freundlich, Kapillarchemie, 2. Aufl., 1922. — 7) J. Gicklhorn, Über den Einfluß photodynamisch wirksamer Farbstofflösungen auf pflanzliche Zellen und Gewebe. Sitzber. Wien. Akad. math.-nat. Kl. 123, Abt. I, 1914, S. 1221. — 8) B. Hansteen-Cranner, Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. Meld. fra Norges Landbruks-hoiskole 2, 1, 1922. — 9) W. Hintzelmann, Die antipyretische Wirkung des Regenwurms und programmatische Hinweise auf die allgemein-biologische

Bedeutung des Tyrosins. Biol. Centr. 42, 293, 1922. — 10) A. Jodlbauer und F. Haffner, Über die Wirkung von Eosin und Rose bengale auf rote Blutkörperchen und den Zusammenhang von Aufnahme und biologischer Wirkung. Pflügers Arch. 189, 243, 1921. — 11) E. Küster, Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. Jahrb. wiss. Bot. 50, 261, 1912. — 12) Th. List, Über den Einfluß des Lichtes auf die Ablagerung von Pigment. Arch. f. Entw.-Mech. 8, 618, 1899. — 13) M. Tr. Mengarini und A. Scala, Über die chemische Durchlässigkeit lebender Algen- und Protozoenzellen für anorganische Salze und die spezifische Wirkung letzterer. Diese Zeitschr. 17, 1, 1909. — 14) P. Metzner, Über die Wirkung photodynamischer Stoffe auf Spirillum volutans und die Beziehungen der photodynamischen Erscheinung zur Phototaxis I. Diese Zeitschr. 101, 33, 1919. — 15) Derselbe, Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung: Die induzierte Phototaxis bei Paramecium caudatum. Diese Zeitschr. 118, 145, 1921. — 16) Derselbe, Über induzierten Phototropismus. Ber. d. bot. Ges. 41, 268, 1923. — 17) C. Neuberg, Chemische Umwandlung durch Strahlenarten. I. Katalytische Reaktionen des Sonnenlichtes. Diese Zeitschr. 18, 304, 1908. — 18) Kurt Noack, Untersuchungen über lichtkatalytische Vorgänge von physiologischer Bedeutung. Zeitschr. f. Bot. 12, 273, 1920. — 19) F. Osthelder und E. Erhardt, Untersuchungen über den Angriffsort der photodynamischen Stoffe bei Paramecien. Mitgeteilt von H. v. Tappeiner, diese Zeitschr. 12, 290, 1908. — 20) E. Overton, Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. 84, 669, 1900. — 21) S. v. Prowazek, Über Fluoreszenz der Zellen. Kleinwelt 6, 1914. — 22) B. Robertson, Die physikalische Chemie der Proteine. Übersetzung von F. A. Wyncken. Dresden 1912. — 23) W. Ruhland, Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. 46, 1, 1908. — 24) F. Schanz, Biochemische Wirkungen des Lichtes. Pflügers Arch. 170, 645, 1918. — 25) C. Schmidt und G. F. Norman, On the protection afforded to red cells against hemolysis by eosin. Journ. of infect. diseases. 27, 40, 1920. — 26) J. Shellards, Med. research. 38, 293, 1918 (zitiert nach Schmidt und Norman). — 27) Fr. H. von Tappeiner, Untersuchungen über den Angriffsort der fluoreszierenden Substanzen auf rote Blutkörper. Diese Zeitschr. 1908. — 28) H. v. Tappeiner, Über das photodynamische und optische Verhalten der Anthrachinone. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 82, 1905. — 29) H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer, Über die Wirkung der photodynamischen (fluoreszierenden) Stoffe auf Protozoen und Enzyme. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 80, 1904. — 30) O. Warburg und E. Negelein, Über den Einfluß der Wellenlänge auf den Energieumsatz bei der Kohlensäureassimilation. Zeitschr. f. phys. Chem. 106, 191, 1923.

**Die eosinophile Granulasubstanz des Blutes
und ihre Darstellung.
Untersuchungen über ihre Beschaffenheit und Eigenschaften.**

I. Mitteilung:
Vorbemerkungen, Technik der Darstellung.

Von
Alfred Neumann.

(Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien.)

(Eingegangen am 10. April 1924.)

Unter den zahlreichen Forschern, die sich, freilich oft vergeblich, um die Klärung des Rätsels der eosinophilen Zelle bemüht haben, hat allein *Petry* versucht, durch Anreicherung auf kleinen Raum diese sonst nur dem Mikroskopiker zugängliche Substanz auch makroskopisch auf ihre chemischen und biologischen Eigenschaften zu prüfen. Nachdem bereits *J. Weiss*¹⁾ und *Noesske*²⁾ die Widerstandsfähigkeit der eosinophilen Granula gegen Fermente erkannt hatten, konnte *Petry*³⁾ eine ziemliche Menge eosinophiler Substanz von beträchtlicher Reinheit durch Behandlung von Pferdeknochenmark bzw. Oxalateleucocyten mit Trypsin gewinnen. Er charakterisiert sie als eine phosphorfreie, den Proteinkörpern bzw. den Keratinen nahestehende, durch Resistenz gegen Säuren und Alkali auffallende Substanz, die ziemlich viel Eisen, aber ohne nachweisbares Hämoglobin enthält. Irgendwelche biologische oder bakterizide Eigenschaften konnte er nicht nachweisen.

So vorzüglich das *Petrysche* Verfahren auch sein mag, so haften ihm doch einige praktisch nicht unwichtige Mängel an: 1. Der Zusatz von Trypsin ist eine nicht unwesentliche Komplikation des Verfahrens, kommt ja doch zu einer Substanz, die man rein darstellen will, ein

¹⁾ Hämamol. Untersuchungen, Prochaska, Wien 1896.

²⁾ Deutsche Zeitschr. f. Chirurg. 55, S. 211, 1900.

³⁾ Wien. klin. Wochenschr. 1908, S. 39; Münch. med. Wochenschr. 1912, S. 35; diese Zeitschr. 88, 92, 1912.

komplexer proteinartiger Körper hinzu; 2. hat man bei den Andauungsversuchen ständig mit der Gefahr einer bakteriellen Verunreinigung zu kämpfen; 3. wäre ich wenigstens zu Beginn meiner Untersuchungen nicht in der Lage gewesen, mir Pferdeknochenmark oder Citratblut in solchen Mengen zu beschaffen, daß eine fortlaufende Ausbeute möglich gewesen wäre. Denn das Ziel, das ich mir von vornherein gesetzt hatte, bestand nicht allein darin, die *Petryschen* Angaben nur einmal auf ihre Richtigkeit nachzuprüfen, sondern durch *wiederholte Darstellung möglichst großer Mengen* der eosinophilen Substanz sowie durch häufige Kontrolluntersuchungen zu eindeutig klaren Schlüssen über ihre Eigenschaften zu gelangen. Zu diesem Zwecke war es aber notwendig, ein Verfahren auszuarbeiten, das unter Verwendung eines schon vorhandenen, aber an sich nicht sehr wertvollen Materials die fortlaufende Reindarstellung größter Mengen eosinophiler Substanz ohne besonderen Kostenaufwand ermöglichte. Ein solches Material ist das bei der Heilserumgewinnung zurückbleibende Pferdeblutfibrin¹⁾.

Die beim Menschen unter gewissen Umständen auftretende *Crusta phlogistica* stellt beim Pferde den normalen Typus der Gerinnung dar. Besonders schön erhält man diese zwischen dem Kuchen der roten Blutkörperchen und dem Serum sich bildende Fibrinschicht bei der Heilserumgewinnung, bei welcher das Blut unter sterilen Kautelen in hohen, etwa 1,3 Liter fassenden Glaszylindern aufgefangen wird. Sobald die Gerinnung des Blutes komplett ist, wird das Fibrin behufs möglichst großer Ausbeute an Serum von oben durch ein schweres Gewicht ganz an die Blutkörperchen gepreßt, dadurch auf tunlichst kleinen Raum konzentriert, ein Vorgang, der übrigens gerade für meine Zwecke nur von größtem Vorteil sein konnte. In diesem Fibrinkuchen erkennt man ohne weiteres schon im Zupfpräparate unter dem Mikroskop die beim Pferd bekanntlich besonders großen eosinophilen Granula. Nach Absaugen des Serums werden die zurückbleibenden Fibrinkuchen möglichst vollständig von den anhaftenden Erythrocyten befreit und mehrere Tage unter fließendem Leitungswasser gehalten, bis die Flüssigkeit sich nicht mehr rot färbt. Dann werden die Kuchen in der Maschine fein zerkleinert und neuerlich unter Leitungswasser belassen. Diese Wässerung soll mindestens 8 Tage in Anspruch nehmen (die Zerkleinerung erfolgt ungefähr am vierten Tage). Das auf diese Art gründlich gewässerte, rein weiße bis graugelbliche Fibrin wird mit der doppelten Gewichtsmenge 1proz. Natronlauge versetzt und einige Tage stehengelassen, bis eine deutliche Quellung des Fibrins eingetreten ist. (Auch *Petry* hat seinerzeit versucht, mit Natronlauge die Granula zu isolieren, diesen Weg aber verlassen, weil sich das Plasma in eine zähe, gallertartige Substanz verwandelt hatte.) Das Gemenge wird nun 20 Minuten hindurch kochendem Wasserdampf ausgesetzt, dadurch in eine gleichmäßige Suspension ver-

¹⁾ Es ist mir ein besonderes Vergnügen, an dieser Stelle der *Direktion der Österreichischen Serumgesellschaft* meinen Dank für das Zuvorkommen auszusprechen, mit dem sie mir die Verwendung und Verarbeitung dieses Materials ermöglicht hat. Auch möchte ich hier nicht ermangeln, Herrn Oberinspektor Dr. *Bäcker* für seine wertvolle Unterstützung bei meinen Untersuchungen bestens zu danken.

wandelt, in der mikroskopisch die Granula teilweise noch in ihrem Verbande, größtenteils aber vollkommen voneinander isoliert, sehr wohl zu erkennen sind. Diese Suspension ist tage- bis wochenlang haltbar, ohne daß die Granula irgendwelche erkennbare Veränderungen erleiden würden. Auch ist wegen des Alkaligehaltes keine besondere Gefahr einer bakteriellen Infektion vorhanden. Falls die Mischung noch fadenziehend ist, wird sie mit Wasser entsprechend verdünnt, um zentrifugiert werden zu können. Bei der eigenen Darstellung erfolgt dies in einer großen Zentrifuge mit hoher Tourenzahl, deren Behälter die gleichzeitige Aufnahme von drei Litern Flüssigkeit gestatten. Die Zahl der Touren beträgt 2000 pro Minute, die Dauer der Zentrifugierung 1 Stunde. Nach dieser Zeit findet man als Sediment eine meistens graugrünliche bis grauweiße, seltener rötlich-braune, ziemlich fest zusammenklebende Masse, die *intensive Peroxydasereaktion* gibt, während die überstehende Flüssigkeit die grauweiße bis grau gelbliche Farbe der alkalischen Fibrinlösung zeigt, dabei aber unter den oben geschilderten Bedingungen *keine Spur von Benzidinreaktion* mehr aufweist. Die praktische Erfahrung hat bewiesen, daß sowohl die Zahl der Touren als auch die Dauer der Zentrifugierung unbedingt einzuhalten ist, da sonst die Ausbeute nicht vollständig wird. Das oben beschriebene Sediment wird mit Aqua dest. aufgenommen und neuerlich in einer kleineren Zentrifuge längere Zeit scharf zentrifugiert. Man erhält dann in der Regel drei Schichten: eine untere, in der noch gewisse Fibrinreste neben zahlreichen eosinophilen Granulis zu sehen sind, eine mittlere, graugrünliche, bisweilen aber auch rein weiße Schicht, die fast ausschließlich aus eosinophilen Granulis besteht, und die oberste Flüssigkeitsschicht, die trübe ist und nicht sehr reichlich Granula enthält. Die mittlere Schicht wird von der Unterlage möglichst isoliert und kann je nach dem Zwecke, dem sie zugeführt werden soll, in Aqua dest. aufgeschüttelt werden, oder sie wird über Alkohol in steigender Konzentration, dann durch Äther durchgeführt und endlich im Trockenkasten (bei 115° C) getrocknet. Makroskopisch erhält man so eine *graugrünliche bis reinweiße, talkartige Masse* von sehr gleichmäßiger Konsistenz, die sich durch *intensivste Peroxydasereaktion* auszeichnet. Bisweilen sieht man noch sehr deutlich die ursprüngliche Granulaform, nicht selten aber sind die Granula in biskuitförmige Scheibchen verwandelt, manchmal auch geschrumpft oder gequollen mit grünlichgelber Eigenfarbe und starkem Lichtbrechungsvermögen. Bei Giemsa-Färbung erhält man selbst bei stundenlanger Einwirkung niemals eine Blaufärbung, während die eventuell vorhandenen Verunreinigungen sich ohne weiteres so färben. Die oben beschriebenen Elemente nehmen Farbstoff überhaupt nur sehr schwer auf. In der Regel zeigen sie eine besondere Vorliebe für das Eosin, so daß das Präparat schon makroskopisch deutlich rosa erscheint, mikroskopisch sind die Konturen rot, das Innere der Körnchen gelblichrot bis gelblich. Nicht selten aber, und zwar besonders dann, wenn die gewonnene Substanz von vornherein starke grünliche Eigenfarbe hatte, erscheinen die Körnchen in jenem blaugrünlichen Ton, den man auch nicht selten bei der Giemsa-Färbung der eosinophilen Granula eines gewöhnlichen Blutausstriches erhält. Die Ursache dieser Farbvariationen soll in einer der nächsten Mitteilungen ausführlich besprochen werden.

Diese Methode hat besonders für chemische Untersuchungen den Vorteil, daß die Substanz nach Möglichkeit von fremden Beimengungen vor allem durch die langdauernde Wässerung von Hämoglobin, befreit

ist. Nachteilig ist es aber, daß bei dieser Darstellung die Granula nicht so erscheinen, wie wir es vom Nativblut gewohnt sind. Zwar habe ich im Laufe der Zeit alle möglichen Übergänge von vollkommen unveränderten Granulis zu den früher beschriebenen biskuitförmigen Formen usw. gefunden, immerhin ist aber doch der Einwand möglich, daß das, was hier dargestellt wird, gar nicht die eosinophile Granulasubstanz des Blutes ist. Wenn man darauf Wert legt, Präparate zu erhalten, die auch morphologisch im weitestgehenden Maße entsprechen, dann empfiehlt sich die im folgenden zu schildernde Modifikation der Darstellung.

Das Fibrin wird nicht gewässert, sondern nach der grob mechanischen Reinigung sofort in die doppelte Menge 1proz. Natronlauge gegeben. Die Behandlung durch Quellung, Kochen und Zentrifugieren erfolgt wie oben. Man erhält nun ein braunrotes bis grünrotes Sediment, das in einer Lösung Normalsalzsäure—95proz. Alkohols (zu gleichen Teilen) so lange durch wiederholtes Kochen und Abzentrifugieren behandelt wird, bis die Masse keinen roten Farbstoff mehr abgibt, selbst aber noch immer braunrot und von feinstkörniger homogener Beschaffenheit ist. Schon im Nativpräparat erkennt man jetzt ohne weiteres die nach Form, Größe und grünlicher nativer Farbe fast unveränderten eosinophilen Granula, die sich mit Giemsa prachtvoll rot färben. Es kann sich nicht um irgendwelche modifizierten Erythrocyten handeln. Dies erhellt schon aus der Tatsache der Behandlung mit kochender Natronlauge einerseits, mit kochender Salzsäure und Alkohol andererseits. Man kann noch weiter gehen, die Masse mit Eisessig kochen, nach dem Erkalten Äther zusetzen und zentrifugieren. Es wird auf diese Weise noch ziemlich viel roter Farbstoff abgegeben. Diese Prozedur wird so lange wiederholt, bis kein Farbstoff mehr abgeht, trotzdem bleibt noch immer eine braune Masse zurück, sind die Granula in ihrer Form kaum verändert, geben bei Färbung mit Giemsa, jetzt aber nur an ihrer Oberfläche, eine deutliche rosa Farbe. Nach einigen Tagen des Dialysierens erscheinen jedoch die Granula wieder genau so eosinophil wie vor der Behandlung mit Eisessigäther, so daß auch diese Tatsache wohl mit Sicherheit dagegen spricht, daß es sich um Erythrocytenreste handelt. Auch habe ich zur Kontrolle wiederholt reine Erythrocytenkuchen auf die oben angegebene Art behandelt und niemals auch nur eine Spur einer solchen Granulasubstanz erhalten. Wir haben es also bei dieser Darstellung mit einer eigentümlichen *granulären*, im höchsten Maße *gegen Säuren und Laugen resistenten* ausgesprochen *eosinophilen* intensiv *peroxydasepositiven Substanz* zu tun, lauter Eigenschaften, die wir als Charakteristika der eosinophilen Leukocytengranula kennen. Auch bei dieser zweiten Darstellungsart erhält man Präparate von großer Reinheit.

Es war mir freilich bis jetzt ebenso wie *Petry* unmöglich, absolut reine Präparate zu erhalten. Immerhin schätze ich auf Grund genauester mikroskopischer Untersuchungen die besten Herstellungsnummern auf eine Reinheit von 90 bis 95 Proz., wobei ich besonders bemerken möchte, daß dann fast jedes einzelne Granulum im Ausstrich für sich isoliert erscheint, während *Petry* von „zahlreichen Verklebungen“ und der so bedingten Möglichkeit der Einschließung fremder Massen spricht.

Ich glaube also mit einer gewissen Berechtigung annehmen zu dürfen, daß durch die eigene NaOH-Methode die Forderung der „reinen Darstellung“ mindestens ebenso erfüllt ist als durch die Trypsinmethode nach *Petry*¹⁾.

¹⁾ Über die Menge der bis jetzt dargestellten Substanz lassen sich schwer bestimmte Angaben machen, weil ein Teil derselben in trockenem, der andere in halbfeuchtem Zustande aufbewahrt wurde. An Trockensubstanz besitze ich über 2 g. Zur Richtschnur kann vielleicht auch dienen, daß ich bei der Entblutung von zwei Pferden das eine Mal aus 220 g Fibrin 0,06 g, das andere Mal aus 300 g Fibrin 0,09 g Trockensubstanz gewonnen habe. Die genannten Fibrinmengen entsprechen zusammen ungefähr 50 Liter Blut. Bis jetzt wurde Fibrin aus einer Menge von über 900 Liter Blut verarbeitet.

Studium der Eiweißkörperkoagulation in Tropfen.

V. Mitteilung:

Über den Einfluß der Gattung, des Geschlechts und des Alters von Tieren
auf die Fällbarkeit des Blutserums.

Von

E. Přibyl, V. Šuk und J. Zlámal.

(Aus dem chemischen Institut der tierärztlichen Hochschule in Brünn,
Tschechoslowakei.)

(Eingegangen am 10. April 1924.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Mit *Bečkas* Tropfenmethode kann man durch bestimmte Fällungsmittel beim Blutserum eine Fällungsfläche erzielen, die durch Umfang und Typus die Gattung des Tieres deutlich erkennen läßt. Auf diese Tatsache wurde bereits in der vorigen Arbeit hingewiesen. Es bleibt nachzuprüfen, ob und wie weit sich die Fällbarkeit des Serums in physiologischer Hinsicht, d. h. durch Alter und Geschlecht des Tieres ändert. Es wurde eine ganze Reihe von Fällungsmitteln ausprobiert und festgestellt, daß einige besonders gut zur Differenzierung der Sera nach Gattung, Geschlecht und Alter geeignet sind.

In dieser Arbeit prüften wir die Fällbarkeit der Sera von 18 Pferden, 28 Rindern und 17 Schweinen verschiedenen Alters und Geschlechts. Die Blutprobe wurde steril nur von gesunden Tieren genommen, 24 Stunden stehengelassen und dann das klare Serum abzentrifugiert. Dabei haben wir den Status der Tiere bestimmt und alle Daten notiert. Als Fällungsmittel haben wir folgende benutzt:

CuSO_4 in Konzentration 1,2 molar, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 2,8 molar, FeSO_4 1,1 molar, $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ 7,4 molar, $\text{KCr}(\text{SO}_4)_2$ 4,9 molar, HgCl_2 1,0 molar, FeCl_3 1,1 molar, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 1,2 molar, HNO_3 1,3 molar, $\text{H}_7\text{P}(\text{W}_2\text{O}_7)_2$ 4,9 molar, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ 1,2 molar, $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ 2,2 molar, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ 2 molar, $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$ 4 molar, $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_9$ 3 Proz., $\text{C}_6\text{H}_2\text{OH}(\text{NO}_2)_3$ 8,4 molar, $\text{C}_6\text{H}_3\text{SO}_2\text{OHCOOH}$ 1,09 molar, CH_2ClCOOH 5,3 molar, HCOH 1 molar, HCOH neutral 1 molar, CH_3CHO 21,5 molar, $\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ 0,6 molar, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 1,5 molar, CCl_3COOH 3,4 molar.

Das sind nur diejenigen Fällungsmittel, die sich bei den Versuchen als stark wirkende erwiesen haben; es kann fraglich sein, ob diese Arbeitsart richtig ist, bevor eine feste Theorie über die Wirkung der Eiweißfällungsmittel besteht; hoffentlich wird durch die Tropfenmethode auch diese Frage befriedigend gelöst werden. Die Konzentration der Lösungen war stark genug, um große Fällungsflächen zu erzielen. Als Verdünnungsmittel nahmen wir teils destilliertes Wasser und teils einen Acetatpuffer von p_H 5,04; bei dieser Acidität zeigte sich nämlich in einer Arbeit Typusänderung der Fällung, was nicht überraschen kann, da diese Reaktion dem isoelektrischen Punkte der Serumproteine sehr nahe liegt. Die Bestimmung der Eiweißkonzentration im Serum geschah refraktometrisch unter Benutzung von *Reisschen* Tabellen; die Resultate wurden durch Formoltitration nach *Steinegger* (die bei Milchuntersuchung üblich ist) kontrolliert und übereinstimmend gefunden. Die p_H -Größe bestimmten wir durch die vereinfachte Indikatorenmethode nach *Michaelis*. Sonst wahrten wir den Arbeitsgang nach *Beckas* Methode. Die ersten Reihen wurden mit unverdünnten Lösungen (Eiweiß und Fällungsmittel), die nächsten mit geometrisch verdünnten getropfelt.

Die Resultate sind in Tabellen zusammengestellt, bei den interessantesten sind graphische Darstellungen hinzugefügt.

Allgemein können wir konstatieren, daß sich wirklich einige Fällungsmittel fanden, die Eiweißkörper einer bestimmten Gattung fällten, jedoch bei einer anderen Tiergattung in denselben Konzentrationen (Eiweiß und Fällungsmittel) vollkommen unwirksam waren.

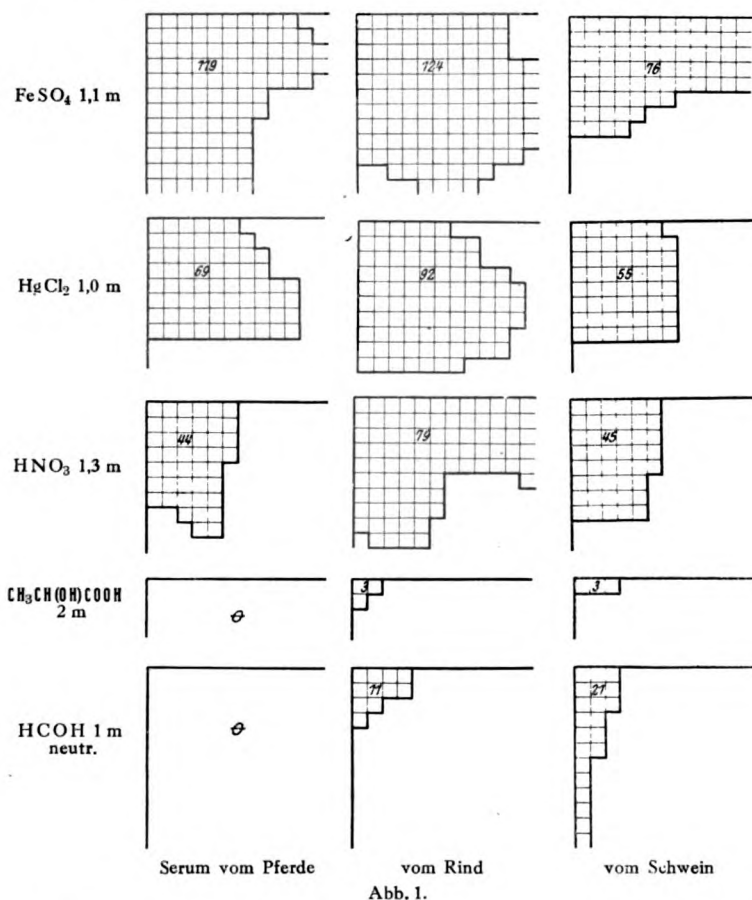
Zugleich verfolgten wir den Zusammenhang zwischen der Fällbarkeit der Eiweißkörper, der Serumreaktion und der Eiweißkonzentration mit dem Alter des Tieres. Es gibt zwar einige Fällungsmittel, die das Alter der Tiere ziemlich prägnant ausdrücken, aber die Fällbarkeit steigt (oder sinkt) nicht regelmäßig mit dem Alter. Die Serumacidität, durch die p_H bestimmt, steht in keinem deutlichen Verhältnis zu dem Alter. Die Eiweißkonzentration steigt jedoch ziemlich regelmäßig mit dem Alter. Unsere Resultate stimmen daher nicht überein mit der Hypothese *Růžickas*: Über die Protoplasmahysteresis als Ursache des Alterns.

Interessant ist die Rolle der Geschlechtsdrüsen: Einige Fällungsmittel unterscheiden deutlich kastrierte und nicht kastrierte Tiere, sogar auch männliches und weibliches Geschlecht.

Experimenteller Teil.

In den Protokollen 1, 2, 3, 4 und 5 sind die Zahlen der gefällten Tropfen in den entsprechenden Kolonnen notiert; die Abb. 1, 2 und 3 enthalten die Bilder, auf denen die gewonnenen Daten am deutlichsten zum Vorschein kommen.

Bei Anwendung von *Ferrosulfat* sieht man beim *Pferde* die Fläche in der Eiweißrichtung verlängert, beim *Rinde* eine relativ große Fällung in beiden Richtungen und beim *Schweine* eine Verlängerung in der Richtung des Fällungsmittels; diese Fällungstypen sind überall unverändert geblieben.



Sublimat fällt in gleichem Typus bei allen Tieren, jedoch ist die Fällbarkeit des *Rinderserums* größer als die des *Pferdeserums* und des *Schweineserums*.

Salpetersäure fällt im gleichen Typus *Pferde-* und *Schweinesera*, aber die Fläche beim *Rinderserum* ist zweimal so groß.

Milchsäure in geprüfter Konzentration fällt *Pferdeserum* überhaupt nicht, *Rinderserum* wenig in beiden Richtungen und *Schweineserum* wenig in der Fällungsmittelrichtung.

Auch *neutraler Formaldehyd* fällt *Pferdeserum* nicht, *Rinderserum* ziemlich stark in beiden Richtungen, *Schweineserum* hauptsächlich in der Eiweißrichtung. Bei diesem ist der Phenoltypus deutlich ausgeprägt.

Äthylalkohol und Chloralhydrat in den angewandten Konzentrationen fallen nicht.

Die Milchsäure und das Neutralformol könnten daher als Differenzierungsfällungsmittel zur Unterscheidung des Pferdeserums von dem Rinder- und Schweineserum dienen.

Verfolgen wir die Durchschnittszahlen der gefällten Tropfen, so konstatieren wir das Maß der Fällungskraft der verwendeten Fällungsmittel wie folgt: Pferdeserum fallen am stärksten: Cadmiumnitrat, dann Cuprisulfat und Ferrosulfat; am schwächsten: Milchsäure. Neutralformol, Chloralhydrat und Äthylalkohol in geprüften Konzentrationen.

Beim Rinderseum ergaben sich folgende Resultate: am meisten fallen Cadmiumnitrat, Cuprisulfat, Sublimat und Sulfosalicylsäure; am wenigsten Chloralhydrat und Äthylalkohol.

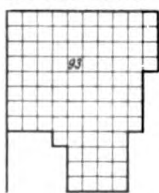
Beim Schweineserum: Cadmiumnitrat, Cuprisulfat und Sulfosalicylsäure und am wenigsten Chloralhydrat.

Bei den Versuchen, in denen zur Verdünnung der Lösungen anstatt des Wassers Acetatpuffer verwendet wurde, haben wir die im Protokoll I verzeichneten Veränderungen beobachtet. Bei der Acidität von p_H 5,04 fallen Milchsäure, Äthylalkohol, Chloralhydrat und Neutralformol überall, sogar auch Pferdeserum, aber die meisten dissoziierten Fällungsmittel verlieren an ihrer Wirksamkeit.

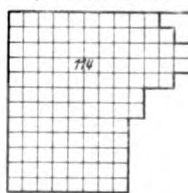
Vergleicht man die Ergebnisse laut Protokoll I beim Pferde, so sieht man, daß sich die Höhe der p_H mit dem Alter überhaupt nicht ändert; weiter bemerkt man, daß bei den älteren Tieren eine größere Eiweißkonzentration vorkommt.

Laut Abb. 2 ist die Fällungskraft von Ferrosulfat beim Pferd bis zum ersten Jahre am höchsten, weiterhin, obzwar der Gehalt der

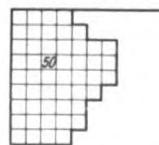
Serum v. Pferde (1 Jahr)
6,98 Proz. Eiweiß



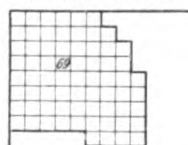
Serum v. Pferde (18 Jahr)
7,98 Proz. Eiweiß



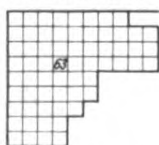
Serum v. Pferde (6 Jahr)
5,98 Proz. Eiweiß



Serum v. Pferde (20 Jahr)
8,49 Proz. Eiweiß



Serum v. Pferde (9 Jahr)
6,64 Proz. Eiweiß



Eiweißkörper größer ist, nimmt die Zahl der gefällten Felder bis in das neunte Jahr ab, aber bei den ältesten Tieren (18 bis 20 Jahre) nimmt sie wieder zu. Dasselbe zeigt die Pikrinsäure.

Die durchschnittlichen Zahlen laut Protokoll 4 zeigen:

1. Verminderung der Fällungskraft mit dem Alter der Tiere bis zum neunten Jahre bei: Cuprisulfat, Ferrosulfat, Ferrisulfat, Ferrichlorid, Cadmiumnitrat, Pyrogallol, Sulfosalicylsäure.

2. Eine Steigerung der Fällungskraft bei: Tannin, Salpetersäure, Phosphorwolframsäure.

Abb. 2. $FeSO_4$ 1,1 m

Protokoll 1.

Serum Nr.	Alter	Geschlecht	Ei- weiß	Proz.	pH	CuSO ₄ 1,2 m	Fe ₂ (SO ₄) ₃ 2,8 m	FeSO ₄ 1,1 m	KAl(SO ₄) ₂ 7,4 m	KCr(SO ₄) ₂ 4,9 m	HgCl ₂ 1,0 m	FeCl ₃ 1,1 m	Cd(NO ₃) ₂ 1,2 m	HNO ₃ 1,3 m	H ₂ P(W ₂ O ₇) ₂ 4,9 m	C ₆ H ₅ .OH 1,2 m	C ₆ H ₅ (OH) ₂ 2,2 m	CH ₃ C ₂ H(OH).COOH ²	C ₆ H ₅ (OH) ₂ 4 m	C ₁₄ H ₁₀ O ₃ 3 Proz.	C ₆ H ₅ OH(NO ₂) ₂ 8,4 m	C ₆ H ₅ SO ₃ OH ^{1,09 m}	CH ₃ ClCOOH 3,3 m	HCOH 1 m	HCOH 1 m, neutral	CH ₃ CHO 21,5 m	CCl ₃ CH(OH) ₂ 0,6 m	C ₂ H ₅ .OH 1,5 m	CCl ₃ .COOH 3,4 m
1	1/4 Jahr	Stute		6,32	5,8	86	30	90	37	18	61	44	92	41	57	23	16	0	25	47	36	77	6	12	0	6	3	0	41
2	1/4 "	Hengst		5,46	6,2	82	38	90	35	19	72	39	94	45	58	21	17	0	19	34	31	67	4	8	0	6	1	0	30
3	1/4 "	Stute		5,78	6,1	90	30	77	32	28	66	35	94	40	55	24	15	0	23	44	36	71	6	13	0	7	1	0	42
4	1/2 "	"		8,06	6,2	80	31	88	34	22	62	39	88	47	58	22	17	0	17	33	36	80	5	19	0	4	1	0	40
5	1 "	Wallach		6,98	6,0	86	37	93	37	19	77	28	98	45	58	16	13	0	19	32	32	68	4	3	0	0	0	0	42
6	6 Jahre	"		5,79	6,3	83	34	50	31	22	65	36	62	45	68	23	15	0	8	51	27	59	4	8	0	5	0	0	41
7	7 "	Stute		6,47	6,2	78	39	55	35	28	66	33	74	45	60	39	13	0	9	59	29	61	3	5	0	7	0	0	36
8	8 "	Wallach		5,59	6,5	82	28	54	31	23	72	28	69	40	61	49	14	0	9	52	26	55	6	8	0	7	0	0	37
9	8 "	"		5,90	6,3	62	33	39	33	21	72	23	82	39	27	22	12	0	18	48	22	49	6	8	0	5	0	0	41
10	8 "	"		6,36	6,4	69	44	107	43	30	70	39	73	34	54	17	21	0	9	54	24	49	2	12	0	4	0	0	36
11	9 "	"		6,42	6,2	86	34	75	37	24	61	26	86	46	63	55	15	0	8	48	26	56	3	5	0	10	0	0	37
12	9 "	Stute		6,76	6,5	81	35	66	30	33	67	32	66	52	77	30	10	0	11	45	32	58	6	11	0	4	0	0	41
13	9 "	Wallach		6,84	6,6	70	31	54	27	20	69	34	65	44	71	19	17	0	12	57	23	57	3	9	0	6	0	0	40
14	12 "	Stute		6,98	6,4	89	33	66	32	27	70	28	73	51	56	47	15	0	6	47	27	50	7	8	0	6	0	0	34
15	16 "	"		7,05	6,8	75	35	48	41	31	60	27	29	84	52	30	34	0	13	67	18	44	7	8	0	7	0	0	36
16	18 "	"		8,42	6,4	80	38	47	33	31	67	29	87	41	68	21	10	0	10	51	32	54	6	8	0	6	0	0	41
17	20 "	"		8,49	6,2	82	39	69	40	30	75	28	69	45	61	23	13	0	8	58	30	53	5	17	0	5	0	0	38
18	20 "	Wallach		7,74	6,0	82	47	69	45	35	74	26	82	50	77	23	13	0	8	58	34	60	7	18	0	5	0	0	38

Serum Nr.	Alter	Geschlecht	Eiweiß Proz.	p _H	Cu SO ₄ 1,2 m	Fe ₂ (SO ₄) ₃ 2,8 m	Fe SO ₄ 1,1 m	K Al(SO ₄) ₂ 7,4 m	K Cr(SO ₄) ₂ 4,9 m	H ₂ CrO ₄ 1,0 m
1	4 Wochen	Stier	5,4	6,0	75	31	93	28	25	42
2	4 "	Kalbin	6,12	5,8	70	38	89	23	33	54
3	4 "	"	5,622	6,0	92	35	32	30	34	62
4	4 "	Stier	5,64	5,8	92	39	32	29	35	68
5	4 "	"	6,68	6,0	78	38	27	34	34	58
6	4 "	"	6,55	6,2	92	35	32	34	33	70
7	5 "	"	5,24	5,8	66	34	84	18	27	63
8	6 "	"	6,44	6,2	82	38	27	33	38	63
9	3/4 Jahr	"	6,22	5,4	84	33	91	32	21	70
10	1 "	Kalbin	7,20	6,8	77	91	130	54	66	94
11	1 "	"	8,57	6,8	86	80	114	52	76	82
12	1 "	"	7,42	6,8	77	86	118	50	65	76
13	1 "	Ochs	8,15	7,1	90	69	69	50	41	83
14	2 Jahre	Stier	7,8	7,4	95	52	40	44	43	92
15	2 "	Ochs	8,58	7,4	78	47	48	40	39	77
16	2 "	Kalbin	6,66	6,6	80	79	112	53	65	84
17	2 1/2 "	"	7,62	6,4	84	77	118	55	68	78
18	2 1/2 "	Kuh	7,24	6,8	81	78	76	36	27	79
19	2 1/2 "	Stier	8,73	6,2	93	52	37	45	45	87
20	2 1/2 "	Ochs	8,69	7,0	88	56	56	50	37	81
21	3 "	Kalbin	6,984	6,4	77	73	124	44	47	82
22	4 1/2 "	Ochs	8,28	5,6	82	52	40	36	39	92
23	6 "	Kuh	7,63	6,2	77	47	32	50	33	96
24	7 "	"	7,35	6,8	74	40	42	33	31	82
25	7 "	"	8,49	6,2	65	51	40	39	43	33
26	10 "	"	7,591	6,9	83	63	42	43	46	61
27	10 "	"	7,416	6,4	91	48	53	51	50	75
28	12 "	"	7,63	6,4	71	66	58	47	42	80

3. Keine Änderung bei: Alaun, Sublimat, Resorcin, Trichloressigsäure.

Beim Rinderserum sieht man dasselbe wie beim Pferde: Die p_H steigt mit dem Alter nicht, jedoch die Eiweißkonzentration wird größer (Protokoll 2).

Hier sind die Fällungsverhältnisse wie folgt:

HNO_3 1,3 m	$\text{H}_7\text{P}(\text{W}_2\text{O}_7)_2$ 4,9 m	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ 12 m	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ 2,2 m	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ 2 m	$\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$ 4 m	$\text{C}_1\text{H}_{10}\text{O}_6$ 3 Proz.	$\text{C}_6\text{H}_2\text{OH}(\text{NO}_2)_3$ 8,4 m	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_3\text{OHCOOH}$ 1,09 m	CH_2ClCOOH 5,3 m	HCOH 1 m	HCOH neutral 1 m	CH_3CHO 21,5 m	$\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ 0,6 m	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 1,5 m	CCl_3COOH 3,4 m
64	52	13	7	2	12	54	30	69	2	6	0	11	0	0	60
76	52	13	9	5	12	55	36	69	3	7	0	12	0	0	39
63	48	6	12	12	15	36	31	63	11	7	0	18	0	0	45
50	47	7	11	13	13	38	30	65	11	13	0	15	0	0	47
49	41	5	10	8	18	29	26	72	13	12	0	13	0	0	44
47	47	6	11	13	12	38	30	65	12	13	0	15	0	0	47
62	43	11	5	3	11	32	29	69	1	4	0	7	0	0	36
53	41	8	11	8	19	33	32	63	14	12	0	8	0	0	47
60	43	15	10	3	20	39	32	77	4	13	0	20	0	0	35
53	75	10	16	8	22	45	32	77	23	23	15	22	0	0	38
62	66	6	16	14	19	68	31	71	21	23	30	29	0	0	81
58	49	8	16	15	17	64	39	70	19	24	32	32	0	0	66
63	61	10	32	19	26	56	28	77	45	23	9	16	0	0	44
62	61	7	13	12	16	48	33	72	15	20	0	24	0	0	57
54	54	8	15	10	15	40	33	66	13	11	0	16	0	0	55
53	49	7	14	5	20	64	31	55	5	7	0	4	0	0	56
52	49	11	16	3	18	34	30	64	4	24	32	2	0	0	71
39	33	11	24	4	9	33	20	62	5	8	11	3	0	0	54
62	60	8	15	3	17	48	33	79	14	22	0	26	0	0	68
72	60	8	16	3	14	38	34	78	15	11	0	15	0	0	58
58	52	10	18	2	23	40	32	76	5	19	11	19	0	0	54
56	54	23	14	3	16	62	33	73	14	23	0	16	0	0	44
37	57	23	17	2	14	35	21	70	5	5	0	3	0	0	59
40	57	11	15	3	14	35	32	64	6	15	0	21	0	0	44
40	63	22	15	2	14	35	24	47	4	17	0	4	0		55
55	60	9	16	11	16	43	28	78	15	19	0	0	0	0	55
48	63	27	12	5	14	43	24	61	9	8	0	0	0	0	43
67	66	13	16	5	16	47	31	82	14	14	0	19	0	0	60

1. Eine Verminderung der Fällungskraft bei: Ferrosulfat, Cuprisulfat, Cadmiumnitrat.

2. Eine Steigerung bei: Ferrisulfat, Sublimat, Salpetersäure, Phosphorwolframsäure, Sulfosalicylsäure, Trichloressigsäure.

Protokoll 3.

Serum Nr.	Alter	Geschlecht	Eis. weiß	pH	CuSO ₄ 1,2 m	Fe ₂ (SO ₄) ₃ 2,8 m	FeSO ₄ 1,1 m	KAl(SO ₄) ₂ 7,4 m	KCr(SO ₄) ₂ 4,9 m	HgCl ₂ 1,0 m	FeCl ₃ 1,1 m	Cd(NO ₃) ₂ 1,2 m	HNO ₃ 1,3 m	H ₃ P(W ₂ O ₇) ₂ 4,9 m	C ₆ H ₅ (OH) ₂ 2,2 m	CH ₃ CO(OH) ₂ · COOH 2 m	C ₆ H ₅ (OH) ₂ 4 m	C ₁₄ H ₁₀ O ₃ 3 Proz.	C ₆ H ₅ SO ₂ · OHCOOH 1,09 m	CH ₃ Cl · COOH 5,3 m	HCOH 1 m	HCOH neutral 1 m	CH ₃ · CHO 21,5 m	CCl ₃ CH(OH) ₂ 0,6 m	C ₂ H ₅ · OH 1,5 m	CCl ₃ · COOH 3,4 m		
																												Proz.
1	3 Monate	Kastrat	7,63	5,8	80	40	73	38	27	56	31	80	56	58	15	13	13	12	37	27	70	6	11	6	16	6	4	64
2	4 "	Mutter- schwein	7,52	6,0	81	39	80	36	25	53	32	87	45	60	14	12	10	11	39	23	60	4	8	6	11	6	2	60
3	5 "	Kastrat	6,98	5,8	75	30	76	35	20	55	41	96	45	60	24	17	3	16	54	26	73	1	14	21	21	6	2	32
4	6 "	"	7,41	5,6	74	30	76	36	20	55	18	96	45	60	14	9	3	16	38	23	74	1	8	21	28	6	2	56
5	6 "	"	7,84	6,2	72	40	83	36	30	59	37	96	53	67	13	10	6	15	45	33	70	3	8	14	20	6	3	37
6	9 "	"	8,36	6,0	82	41	76	38	31	50	34	85	48	61	16	11	1	15	42	32	77	3	10	11	22	6	2	37
7	1 Jahr	"	7,62	6,0	69	35	74	35	33	62	30	96	40	60	12	11	3	14	39	22	72	2	11	15	27	6	3	37
8	1 "	"	8,41	5,8	74	31	75	39	29	54	41	86	45	58	13	10	1	11	42	24	77	3	14	16	24	6	2	43
9	2 Jahre	"	8,26	6,2	80	38	68	28	27	55	28	99	65	61	24	12	4	17	44	31	88	1	13	16	12	6	4	45
10	2 "	Mutter- schwein	8,70	5,9	90	45	70	37	39	55	30	103	56	67	15	10	4	12	38	35	75	4	5	13	25	6	2	42
11	2 "	"	8,74	6,4	80	49	70	31	26	60	28	101	75	81	14	11	5	16	69	44	87	2	17	14	25	6	6	55
12	3 "	Kastrat	8,49	6,1	97	56	65	26	36	68	29	96	57	67	19	12	3	12	45	36	82	3	9	12	21	6	3	54
13	3 "	"	8,92	6,0	91	51	78	28	35	62	33	98	84	75	18	12	6	14	47	43	88	5	10	13	24	6	4	50
14	4 "	"	9,13	6,8	90	32	90	37	28	79	34	102	59	50	18	16	1	29	34	40	83	3	18	13	23	6	3	42
15	4 ¹ / ₂ "	"	8,76	6,4	87	32	84	39	33	71	31	98	67	58	17	14	2	25	38	32	86	3	17	13	18	6	3	44
16	5 "	Mutter- schwein	9,18	6,8	85	34	83	31	29	77	36	101	63	65	20	16	3	27	49	32	88	2	16	10	21	6	2	49
17	5 "	"	9,24	6,0	92	42	97	38	46	87	42	116	72	76	19	17	3	27	60	45	92	5	22	16	20	6	6	65

Protokoll 4.

Alter	Gattung	Eis- weiß	pH	CuSO ₄ 12 m	Fe ₂ (SO ₄) ₃ 2,8 m	FeSO ₄ 1,1 m	KAl(SO ₄) ₂ 7,4 m	KCr(SO ₄) ₂ 4,9 m	HgCl ₂ 1,0 m	FeCl ₃ 1,1 m	Cd(NO ₃) ₂ 1,2 m	HNO ₃ 1,3 m	H ₂ P(W ₂ O ₇) ₂ 4,9 m	C ₆ H ₅ · OH 1,2 m	C ₆ H ₅ (OH) ₂ 2,2 m	CH ₃ CH(OH) ₂ · COOH 2 m	C ₆ H ₅ (OH) ₃ 4 m	C ₁₄ H ₁₀ O ₃ 3 Proz.	C ₆ H ₅ (OH) (NO ₂) ₃ 8,4 m	C ₆ H ₅ SO ₃ · OHCOOH 1,09 m	CH ₃ Cl · COOH 5,3 m	HCOH 1 m	HCOH neutral 1 m	CH ₃ · CHO 21,5 m	CCl ₃ CH(OH) ₂ 0,6 m	C ₂ H ₅ · OH 1,5 m	CCl ₃ · COOH 3,4 m
Bis zu 1 Jahr . Von 1 Jahr bis zu 10 Jahren . Von 10 Jahren aufwärts . . .	Pferd	{ 6,53 7,14 7,73 7,13	{ 6,0 6,3 6,3 6,2	84	33	87	35	21	67	37	93	43	57	21	15	0	20	36	34	72	5	11	0	4	1	0	37
				76	33	62	33	25	67	31	73	43	60	33	14	0	10	51	25	55	4	8	0	4	0	0	37
				63	21	60	30	31	69	27	68	54	63	31	17	0	9	56	28	52	6	7	0	6	0	0	37
				74	29	70	33	26	67	31	78	47	60	28	15	0	13	47	29	57	5	8	0	5	0	0	0
Bis zu 1 Jahr . Von 1 Jahr bis zu 10 Jahren . Von 10 Jahren aufwärts . . .	Rind	{ 6,25 7,78 7,63 7,33	{ 6,2 6,6 6,4 6,4	81	50	72	36	40	67	36	85	57	51	9	13	9	16	45	31	70	14	14	6	17	0	0	48
				82	59	61	44	44	79	38	75	52	55	13	16	4	16	43	29	67	9	14	4	11	0	0	55
				71	66	58	47	42	80	33	92	67	66	13	16	5	16	47	31	82	14	14	4	19	0	0	60
				78	58	67	42	42	75	45	84	58	57	12	15	6	16	45	30	73	12	14	5	15	0	0	53
Bis zu 1 Jahr . Von 1 Jahr bis zu 10 Jahren .	Schwein	{ 7,74 8,82 8,28	{ 5,9 6,3 6,1	76	35	76	36	27	55	33	90	46	60	15	11	5	13	43	24	71	3	10	12	21	0	2	45
				88	42	81	32	33	68	32	101	66	64	18	13	3	20	45	33	86	3	14	13	21	0	4	49
				82	38	78	34	30	61	32	94	56	62	16	12	4	16	44	28	78	3	12	12	21	0	3	47
				Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Pferd Rind Schwein		{ 100 108 116	{ 100 103 98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
				105	200	95	127	122	115	145	107	125	35	42	100	600	124	95	103	129	240	175	500	300	100	100	143
				110	131	111	103	115	91	103	120	119	103	57	80	400	124	93	96	136	60	150	1200	420	100	300	127

Protokoll 5.

Serum Nr.	Alter	Geschlecht	Eis. weiß	pH	Proz.	CuSO ₄ 1,2 m	Fe ₂ (SO ₄) ₃ 2,8 m	FeSO ₄ 1,1 m	KAl(SO ₄) ₂ 7,4 m	KCr(SO ₄) ₂ 4,9 m	HgCl ₂ 1,0 m	FeCl ₃ 1,1 m	Cd(NO ₃) ₂ 1,2 m	HNO ₃ 1,3 m	H ₂ P(W ₂ O ₇) ₂ 4,9 m	C ₆ H ₅ .OH 1,2 m	C ₆ H ₄ (OH) ₂ 2,2 m	CH ₃ CH(OH).COOH 2 m	C ₆ H ₅ (OH) ₂ 4 m	C ₁₄ H ₁₀ O ₃ 3 Proz.	C ₆ H ₅ OH(NO ₂) ₂ 8,4 m	C ₆ H ₅ SO ₃ .OHCOOH 1,09 m	CH ₃ Cl.COOH 5,3 m	HCOH 1,0 m	HCOH 1,0 m neutral	CH ₃ .CHO 21,5 m	CCl ₃ CH(OH) ₂ 0,6 m	C ₆ H ₅ .OH 1,5 m	CCl ₃ .COOH 3,4 m
5	1 Jahr	Wallach serum	6,98	6,8	40	77	34	6	0	0	43	41	18	28	85	19	19	1	19	48	11	43	2	2	28	14	2	0	29
6	6 Jahre		5,79	6,3	62	84	100	8	0	0	51	46	17	56	94	28	16	3	19	89	12	47	3	6	33	10	0	30	
12	9 "		Stute	6,76	6,5	52	81	96	9	0	0	78	33	14	44	87	38	20	5	16	66	13	42	5	6	29	22	0	41
9	3/4 Jahr	Stier	6,22	5,4	38	40	46	7	0	0	47	41	29	39	80	19	17	0	27	38	14	48	8	13	57	3	4	3	40
19	2 1/2 Jahre	Ochs serum	8,73	6,2	50	64	92	12	0	0	47	44	44	50	92	31	22	3	31	61	16	54	21	17	59	0	5	3	43
20	2 1/2 "		8,69	7,0	44	74	83	7	0	47	42	42	41	70	28	20	4	20	70	18	50	32	12	48	6	5	0	43	
24	7 "		Kuh	7,35	6,8	55	53	53	8	0	44	49	28	50	88	24	27	0	33	47	14	52	4	14	54	4	4	3	40
25	7 "	Rinderserum	8,49	6,2	54	51	43	42	0	51	52	23	46	66	17	11	0	11	33	27	44	7	14	50	2	5	3	36	
27	7 "		"	7,41	6,4	45	40	52	12	0	59	51	27	48	81	21	20	3	24	70	12	49	9	16	56	7	5	3	44
27	10 "		"																										

3. Keine Änderung bei: Chromalaun, Ferrichlorid, Resorcin, Pyrogallol, Tannin, Formaldehyd.

Beim Schweine konnten wir die Verhältnisse nicht gründlich studieren, da ältere Tiere nicht zu beschaffen waren. Aus dem vorhandenen Material konnten wir feststellen, daß eine Änderung der p_H mit dem Alter nicht eintritt, daß aber die Eiweißkonzentration steigt und verhältnismäßig größer ist als beim Pferde und Rinde.

Aus den Detailzahlen bei den Fällungsmitteln der ersten Gruppe (Protokoll 1, 2, 3) kann man erkennen, daß Eiweiße von den jüngsten und ältesten Tieren am meisten koagulieren, während bei den Tieren mittleren Alters eine Erniedrigung stattfindet. Diese Erscheinung hat ihre Analogie in der allgemein größeren Resistenz des Organismus in den mittleren Jahren gegen schädliche Wirkungen.

Zum weiteren Studium des Einflusses vom Alter eignen sich besonders: Beim Pferde Ferrosulfat und Cadmiumnitrat; beim Rinde und Schweine: Cuprisulfat, Ferrosulfat und Acetaldehyd.

Aus den Protokollen 1, 2, 3 und der Abb. 3 sieht man auch sehr markant, daß die *Geschlechtsdrüsen* einen gewissen Einfluß auf die Koagulation haben.

Die Resultate beim Pferde sind nicht eindeutig. Größere Unterschiede auf

diesem Gebiete zeigt das Rinder Serum. Laut Abb. 3 fällt Chromkali-alaun bei fast gleichem Alter der Tiere am stärksten Kuh-, dann Stier- und am wenigsten Ochsen Serum. Die Resultate sind um so auffallender,

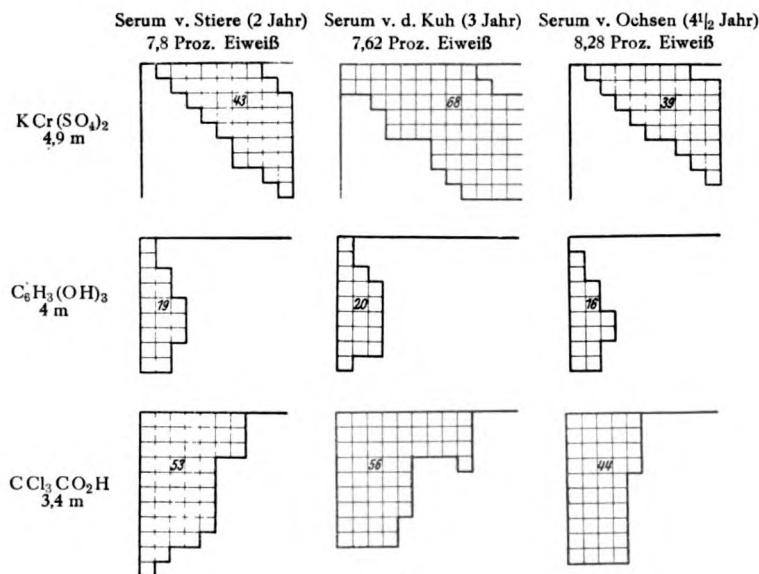


Abb. 3.

als beim Ochsen Serum die größte Eiweißkonzentration vorhanden ist. Dieselben Verhältnisse finden sich bei *Trichloressigsäure* und beim *Pyrogallol* auch, aber nicht in so großem Maße.

Beim *Schweine* sind analoge Resultate wie beim Rinde.

Zusammenfassung.

1. Die Fällungsbilder des Pferde-, Rinder- und Schweineserums unterscheiden sich im Umfange und im Typus der gefällten Fläche. 2 molare Milchsäure, 1 molarer neutraler Formaldehyd, 1,5 molarer Äthylalkohol, in der Verdünnung mit destilliertem Wasser und bei physiologischen Werten der p_H fallen Pferdeserum nicht. 0,6 molares Chloralhydrat mit Ausnahme bei den jüngsten Tieren auch nicht.

2. Das Alter der Tiere hat einen Einfluß auf die Serumfällbarkeit. Allgemein gibt es Fällungsmittel, deren Wirkung mit dem Alter der Tiere sinkt, wächst oder unverändert bleibt. Von der ersten Gruppe sind es beim Pferde: Cuprisulfat, Ferrosulfat, Ferrisulfat, Ferrichlorid, Cadmiumnitrat, Pyrogallol, Sulfosalicylsäure; beim Rinde: Ferrosulfat, Cuprisulfat, Cadmiumnitrat. Von der zweiten beim Pferde: Tannin, Salpetersäure, Phosphorwolframsäure; beim Rinde: Ferri-

sulfat, Sublimat, Salpetersäure, Phosphorwolframsäure, Sulfosalicylsäure, Trichloressigsäure in geprüften Konzentrationen.

3. Bei kastrierten Tieren ist die Koagulation kleiner als bei männlichen und weiblichen Individuen. Die ausprobierten Fällungsmittel sind: Chromkalialaun, Trichloressigsäure und Pyrogallol.

Literatur.

Die vorigen Mitteilungen in dieser Zeitschr.: I. Mitt. 187, Heft 4/6; II. und III. Mitt. 188, Heft 4/6; IV. Mitt. 145, Heft 1/2. — Otakar Laxa. Chemické zkoušení mléka a mléčných výrobků. — Publikace vys. šk. zvěrolék. v Brně. 1923 und 1924.

Darstellung schwefelhaltiger Melanine.

Von

Oskar Adler (Karlsbad).

(Eingegangen am 11. April 1924.)

Bei den Untersuchungen von Melaninen aus melanotischen Geschwülsten ist mit großer Regelmäßigkeit Schwefel gefunden worden. Die beobachteten Werte sind allerdings außerordentlich schwankend und bewegen sich zwischen 2 bis 11 Proz.¹⁾ Die Schwankungen der Werte sind verständlich, wenn erwogen wird, daß die Pigmente aus dem umgebenden schwefelreichen Gewebe nicht leicht abgesondert werden können, so daß Schwefel, aus anderen Organbestandteilen stammend, als Beimengung auftreten kann; zudem sind die verschiedenen isolierten Melanine vielleicht nicht einheitlicher Natur, was die verschiedenen Werte erklären würde. Jedenfalls hat der analytische Weg die Frage nach dem Schwefelgehalt der natürlichen Melanine bisher zu keiner Entscheidung geführt.

Es schien mir daher erwünscht, im Anschluß an die Darstellung der stickstoffhaltigen Melanine einige schwefelhaltige Melanine auf *synthetischem* Wege darzustellen. Zu diesem Behufe habe ich zwei verschiedene Typen von Ausgangsprodukten gewählt. In dem einen Falle wählte ich einen Stoff, bei dem der Schwefel als Sulfosäure vorhanden ist, die *Tyrosinsulfosäure*. Da wir die Eigenschaften der aus dem Tyrosin dargestellten schwefelfreien Tyrosinmelaninsäure bereits kennengelernt haben²⁾, war der Einfluß der Sulfosäure bei dem neu dargestellten Produkt, das ich vorläufig mit dem orientierenden Namen *Tyrosinsulfomelaninsäure* bezeichnen will, leichter zu beurteilen. Die Darstellung dieser Sulfomelaninsäure erfolgte nach der bereits mehrfach geschilderten Methodik durch Oxydation mittels Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von Eisenchlorid³⁾; die Isolierung aus dem Reaktionsgemisch aber war infolge der veränderten Löslichkeit der Tyrosinsulfomelaninsäure schwieriger. Denn während die Tyrosinmelaninsäure

¹⁾ O. Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **89**, 1897.

²⁾ Diese Zeitschr. **141**, 304, 1923.

³⁾ Ebendasselbst **137**, 201, 1923; **141**, 304, 1923.

durch Zusatz von Mineralsäure leicht ausgeflockt werden konnte, ist dies bei der entsprechenden Sulfomelaninsäure nicht der Fall. Diese ist in verdünnten Mineralsäuren löslich und konnte demnach erst auf einem umständlicheren, im experimentellen Teile beschriebenen Wege isoliert werden. Dasselbe gilt übrigens auch für andere von mir dargestellte Sulfomelaninsäuren (Benzolsulfomelaninsäure, o-Tolidindsulfomelaninsäure), deren nähere Beschreibung in einer späteren Mitteilung erfolgen soll. Durch die Löslichkeit in verdünnten Mineralsäuren unterscheiden sich die Sulfomelaninsäuren von den aus Geschwulstmelaninen gewonnenen Melaninsäuren, die aus ihren Lösungen durch verdünnte Mineralsäuren ausgeflockt werden. Es ist daher der Schluß berechtigt, daß bei den natürlichen Melaninsäuren der Schwefel nicht in Form der Sulfosäure vorhanden ist.

In biologischer Hinsicht verhält sich die Tyrosinsulfomelaninsäure der Tyrosinmelaninsäure analog; sie vermag ebenso wie diese in Form des Natriumsalzes die Gerinnung des Blutes zu hemmen. Die Vermutung, daß die Toxizität durch den Einfluß der Sulfosäure eine geringere sein werde, hat sich nicht bestätigt.

Die Tyrosinsulfomelaninsäure wurde durch Erhitzen auf 270° in das Anhydrid, das in allen üblichen Lösungsmitteln unlösliche *Tyrosinsulfomelanin*, umgewandelt. Trotz des eingreifenden Verfahrens bleibt hierbei der Schwefel haften, wie aus den weiter unten mitgeteilten analytischen Daten über den Schwefelgehalt ersichtlich ist.

Während die bisher dargestellten schwefelfreien künstlichen Melaninsäuren ebenso wie die aus Geschwulstmelaninen erhaltenen bei der Dialyse durch tierische Membranen oder durch Pergamentpapier nicht hindurchgehen, zeigt die oben kurz erwähnte Benzolsulfomelaninsäure eine wenn auch nicht prägnante, aber immerhin deutliche Neigung, diese Membranen zu passieren, im Gegensatz zur schwefelfreien Benzolmelaninsäure. Dieser Einfluß der Sulfogruppen ist bei zahlreichen Teerfarbstoffen, welche Sulfogruppen enthalten, bekannt¹⁾. Bei den anderen hier dargestellten Sulfomelaninsäuren war die Dialysierbarkeit aber nicht so deutlich festzustellen. Es ist beabsichtigt, durch Einführung mehrerer Sulfogruppen in Melaninsäuren von verhältnismäßig niedriger Atomzahl im Molekül die Erscheinung der Dialyse deutlicher zu machen.

Als Typus für das zweite Ausgangsprodukt zur Darstellung einer schwefelhaltigen Melaninsäure wurde das *Thiophen* gewählt, bei welchem der Schwefel am Kern als „neutraler“ Schwefel vorhanden ist. Die nach der üblichen Methodik daraus dargestellte Melaninsäure, die ich als *Thiophenmelaninsäure* bezeichnen will, ist durch Ansäuern mit Mineralsäure leicht auszuflocken, verhält sich demnach analog den bisher dar-

¹⁾ R. Zsigmondy, Kolloidchemie 1912, S. 217.

gestellten schwefelfreien Melaninsäuren. Auch sie hemmt in Form ihres Natriumsalzes die Blutgerinnung. Durch Erhitzen auf 270° ließ sie sich glatt und ohne Schwefelverlust in das entsprechende *Thiophenmelanin* überführen.

Schließlich wurde noch das Bariumsalz der Tyrosinsulfomelaninsäure dargestellt und dessen Bariumgehalt ermittelt.

Bei dieser Gelegenheit wurde die Bestimmung des Barium- und des Silbergehaltes der entsprechenden Salze der schwefelfreien Tyrosinmelaninsäure nachgeholt, wobei ein Bariumwert von 41,56 Proz. und ein Silberwert von 49,17 Proz. festgestellt wurde. Da der auf Grund der Bariumbestimmung zu erwartende Silberwert annähernd 50 Proz. beträgt und die kleine Differenz in den Fehlerquellen der angewendeten verschiedenen Methoden liegt, spricht dieses Ergebnis dafür, daß es sich um echte Salzbildung handelt und nicht um Adsorptionsverbindungen im Sinne von *van Bemmelen*¹⁾.

Für die Durchführung der im folgenden mitgeteilten Mikroanalysen nach *Pregl* bin ich Herrn Dozenten Dr. *Hans Lieb* in Graz zu größtem Danke verpflichtet.

Experimenteller Teil.

Darstellung der Tyrosinsulfomelaninsäure.

10 g wasserfreier Tyrosinsulfosäure²⁾ wurden in 500 ccm siedenden Wassers gelöst. Nach dem Erkalten wurden 22 ccm 10 proz. Eisenchloridlösung und in kleinen Portionen 200 ccm 3 proz. Wasserstoffsuperoxyds unter Rühren zugesetzt. Die auftretende Wärmereaktion wurde durch Außenkühlung des Gefäßes gehemmt. Nach vierstündigem Stehen wurde das dunkle Reaktionsgemisch mit 100 ccm Essigsäure versetzt, mit konzentrierter wässriger Bleiacetatlösung ausgefällt, sogleich nach der Ausfällung mit der Nutsche abgesaugt und der so erhaltene Niederschlag zuerst mit viel Wasser, schließlich mit Alkohol und Äther gewaschen. Dieses Bleisalz der Tyrosinsulfomelaninsäure bildet in trockenem Zustande ein graues Pulver, welches befeuchtet tief dunkelbraun wird. Es ist kaum löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther. Das Bleisalz wurde in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und nach 18stündigem Stehen abgesaugt. Da der größte Teil des Bleisulfids nicht ausgeflockt, sondern in kolloidaler Lösung geblieben war, wurde die Lösung am Wasserbade zur Trockne verdampft, die erhaltene dunkle Masse mit 100 ccm 60 proz. Alkohol portionsweise gründlich ausgelaugt und die alkoholische Lösung nach 16stündigem Stehen filtriert. Das Filtrat wurde in das doppelte Volumen warmen absoluten Alkohols eingegossen. Nach 5stündigem Stehen wurde der so gewonnene Niederschlag abgesaugt, mit absolutem Alkohol, hernach mit

¹⁾ *van Bemmelen*, Die Adsorption. Dresden 1910.

²⁾ *Staedeler*, Ann. d. Chem. u. Pharm. 116, 64, 1860.

Äther gewaschen und zuerst im Luftbade bei 35°, dann im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet.

Da die Mutterlauge noch viel von der Substanz enthielt, wurde sie am Wasserbade zur Trockne abgedampft, wobei eine dunkle Masse hinterblieb. Diese wurde durch 20 Stunden im Exsikkator über Chlorcalcium und dann noch durch 7 Stunden im Luftbade bei 35° getrocknet. Die Masse wurde sodann mit absolutem Alkohol portionsweise gründlich verrieben und durch 24 Stunden mit absolutem Alkohol unter häufigem Umschütteln ausgelaut. Sodann wurde der absolute Alkohol, der die verunreinigenden Beimengungen enthält, jedoch die Tyrosinsulfomelaninsäure nicht löst, durch Absaugen vom verbliebenen Niederschlage getrennt und dieser noch gründlich mit absolutem Alkohol und hernach mit Äther gewaschen. Die Substanz wurde zuerst im Luftbade bei 35° und schließlich im Vakuumexsikkator über Chlorcalcium bei Zimmertemperatur getrocknet.

Im ganzen wurde auf diese Weise 1,5 g Tyrosinsulfomelaninsäure, entsprechend 15 Proz. der als Ausgangsprodukt verwendeten Tyrosinsulfosäure, erhalten.

Dunkelgraues, amorphes, hygroskopisches Pulver. Leicht löslich in Wasser, in verdünnter Salzsäure, in Sodalösung, in warmem 60proz. Äthylalkohol, in mit Wasser verdünntem Aceton; ziemlich löslich in käuflichem Essigäther, wenig löslich in trockenem Aceton, unlöslich in kaltem absoluten Alkohol.

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz durch mehrere Wochen im Exsikkator bei Zimmertemperatur zuerst über Chlorcalcium, dann über Schwefelsäure getrocknet. Die hygroskopischen Eigenschaften der Substanz bereiteten den Analysen, wie mir Herr Dozent *Lieb* freundlichst mitteilte, große Schwierigkeiten. Jede Einwage mußte gesondert im Vakuum über Schwefelsäure bei 2 mm Druck bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden. Die folgenden C- und H-Werte sind auf aschefreie Substanz berechnet.

1. 6,740 mg getrockneter Substanz: 0,094 mg Asche, entsprechend 1,39 Proz. Asche, 10,93 mg CO₂; 2,24 mg H₂O, entsprechend 44,86 Proz. C, 3,77 Proz. H.

2. 6,200 mg Substanz: 0,103 mg Asche, entsprechend 1,66 Proz. Asche, 9,99 mg CO₂; 2,18 mg H₂O, entsprechend 44,69 Proz. C, 4,00 Proz. H.

3. 7,23 mg Substanz verbrauchten 2,86 ccm n/100 HCl, entsprechend 5,55 Proz. N.

4. 8,735 mg Substanz verbrauchten 3,35 ccm n/100 HCl, entsprechend 5,37 Proz. N.

5. 8,612 mg Substanz: 5,02 mg Bariumsulfat, entsprechend 8,01 Proz. S.

6. 7,570 mg Substanz: 4,37 mg Bariumsulfat, entsprechend 8,05 Proz. S.

Natriumsalz. 0,54 g der Säure wurden in 2,7 ccm warmer 10proz. Natronlauge gelöst und in die zwanzigfache Menge warmen absoluten

Alkohols eingeührt. Der erhaltene Niederschlag wurde abgesaugt, mit absolutem Alkohol und dann mit entwässertem Äther gewaschen. Die Substanz wurde zuerst im Luftbade bei 35° und schließlich im Exsikkator über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet. Ausbeute: 0,56 g.

Schwarzbraunes amorphes Pulver. Sehr leicht löslich in Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol, Äther und Aceton. Wird aus der wässrigen Lösung durch Zusatz des gleichen Volumens konzentrierter Kochsalzlösung größtenteils ausgeflockt. Durch verdünnte Salzsäure wird es aus der wässrigen Lösung — im Gegensatz zum schwefelfreien tyrosinmelaninsäuren Natrium — nicht ausgeflockt. Reduziert ammoniakalische Silberlösung unter Zusatz von Natronlauge beim Erwärmen. Mit Chlorbarium gibt die wässrige Lösung eine voluminöse, auch in der Hitze unlösliche Fällung. Die Lösung des Natriumsalzes wirkt hemmend auf die Blutgerinnung.

Bariumsalz. 0,18 g des Natriumsalzes wurden in 10 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit Chlorbarium bis zur völligen Ausflockung versetzt, die dichte Flockung mit Wasser verdünnt und durch 36 Stunden stehen gelassen. Dann wurde der Niederschlag mittels der Nutsche abgetrennt, zuerst sorgfältig mit Wasser, schließlich mit absolutem Alkohol und mit wasserfreiem Äther gewaschen. Die Substanz wurde zuerst im Luftbade bei 35° und hierauf im Exsikkator über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet. Ausbeute: 0,16 g. Schwarzbraunes amorphes Pulver. In trockenem Zustande unlöslich in Wasser, desgleichen in Alkohol und Äther.

Zur Bestimmung des Bariumgehaltes wurde die bereits getrocknete Substanz, die sich in feuchtem Zustande sehr schwer reinigen läßt, da die Flocken einerseits leicht durchs Filter gehen, andererseits die Filterporen bald verstopfen, mit heißem Wasser mehrmals ausgekocht, neuerlings, wie oben erwähnt, gewaschen und durch mehrere Wochen im Exsikkator getrocknet. Nach dem Trocknen hat die Substanz den lockigen Charakter verloren und sinkt im Wasser rasch zu Boden.

Zur Bariumbestimmung wurde die Substanz im Vakuum bei 2 mm Druck über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet.

Tyrosinsulfomelaninsäures Barium. 7,288 mg Substanz: 2,988 mg Ba SO_4 , entsprechend 24,13 Proz. Ba.

Tyrosinmelaninsäures Barium. 8,949 mg Substanz: 6,323 mg Ba SO_4 , entsprechend 41,56 Proz. Ba.

Tyrosinmelaninsäures Silber. 0,1459 g Substanz: 0,0953 g AgCl , entsprechend 49,17 Proz. Ag.

Überführung der Tyrosinsulfomelaninsäure in Tyrosinsulfomelanin.

0,18 g der getrockneten, fein gepulverten Säure wurden im locker gedeckten Uhrglase im Wärmeschränk 2 Stunden auf 270° erhitzt. Die weitere Verarbeitung geschah in derselben Weise, wie dies bei der Dar-

stellung des schwefelfreien Tyrosinmelanins geschildert wurde. Ausbeute an Tyrosinsulfomelanin: 0,08 g, entsprechend 44 Proz. des Ausgangsproduktes.

Die Substanz bildet ein schwarzes hygroskopisches Pulver, welches in kalten Alkalien und Säuren und in den sonstigen üblichen Lösungsmitteln unlöslich ist.

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz, und zwar wegen der großen Hygroskopizität jede Einwage gesondert, bei 120 bis 125° im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Substanz erwies sich als aschefrei.

1. 4,393 mg Substanz: 9,67 mg CO_2 , 1,38 mg H_2O , entsprechend 59,41 Proz. C, 3,51 Proz. H.

2. 4,567 mg Substanz: 9,96 mg CO_2 , 1,38 mg H_2O , entsprechend 59,48 Proz. C, 3,38 Proz. H.

3. 8,74 mg Substanz verbrauchten 4,48 ccm n/100 HCl, entsprechend 7,18 Proz. N.

4. 9,81 mg Substanz verbrauchten 5,11 ccm n/100 HCl, entsprechend 7,29 Proz. N.

5. Zur S-Bestimmung wurde ein Präparat einer anderen Darstellung verwendet, welches im Vakuum bei 110 bis 115° getrocknet wurde. 6,480 mg Substanz: 0,12 mg Asche, entsprechend 1,85 Proz. Asche. 6,36 mg aschefreie Substanz: 3,92 mg BaSO_4 , entsprechend 8,47 Proz. S.

Darstellung der Thiophenmelaninsäure.

Zu einer Mischung von 5 g synthetischem Thiophen, 30 ccm Wasser und 2,5 ccm 10 proz. Eisenchloridlösung wurden 65 ccm 3 proz. Wasserstoffsuperoxyds in kleinen Portionen zugesetzt unter scharfem Rotieren des Becherglases. Das Reaktionsgemisch erwärmt sich spontan, es tritt Trübung und allmählich eine schokoladenbraune Färbung ein. Nach 30 Minuten wurde noch 1 ccm der Eisenchloridlösung zugesetzt und sodann das Reaktionsgemisch mit dem halben Volumen Wasser verdünnt. Zur Abscheidung des entstandenen dunklen Produktes wurden 2 ccm 36 proz. Salzsäure zugesetzt. Nach 24stündigem Stehen wurde der Niederschlag mittels der Nutsche abgesaugt, zuerst sorgfältig mit Wasser, dann zur Entfernung des anhaftenden Thiophen noch feucht mit Äther gewaschen. Sodann wurde der Niederschlag in 100ccm 1 proz. Natronlauge gelöst, nach 16stündigem Stehen filtriert, das Filtrat mit 12 ccm 12 proz. Salzsäure ausgeflockt, nach mehrstündigem Stehen neuerlich abgesaugt, der Niederschlag wiederum mit Wasser, dann mit Äther, hierauf mit 10 ccm einer Mischung von 1 Teil Alkohol und 5 Teilen Äther, und schließlich mit trockenem Äther gewaschen. Die Substanz wurde zuerst im Luftbade bei 35°, hierauf im Exsikkator über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet. Die getrocknete Substanz wurde in absolutem Alkohol, worin sie ziemlich leicht löslich ist, bei Zimmertemperatur allmählich in Lösung gebracht, das Filtrat am

Wasserbade abgedampft und die so gereinigte Substanz neuerlich, wie oben erwähnt, getrocknet. Ausbeute an Thiophenmelaninsäure: 1 g entsprechend 20 Proz. des verwendeten Thiophens.

Die Substanz bildet ein dunkles, amorphes Pulver, welches leicht löslich ist in Alkalien, in Soda- und Ammoncarbonatlösung; durch Zusatz von Säuren tritt Ausflockung ein. Die Substanz ist ferner ziemlich leicht löslich in absolutem Alkohol, Methylalkohol, Aceton und Essigäther. In verdünnten Säuren ist sie unlöslich. Desgleichen unlöslich in Äther, Petroläther, Benzol und Chloroform. Ammoniakalische Silberlösung unter Zusatz von Natronlauge wird beim Erwärmen reduziert unter Bildung eines Silberspiegels.

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz, und zwar jede Einwage gesondert, im Vakuum über Schwefelsäure bei 2 mm Druck getrocknet. Die CH-Werte sind auf aschefreie Substanz berechnet.

1. 5,649 mg Substanz: 0,126 mg Asche, entsprechend 2,22 Proz. Asche, 9,12 mg CO_2 ; 1,80 mg H_2O , entsprechend 45,03 Proz. C, 3,65 Proz. H.
2. 6,230 mg Substanz: 0,134 mg Asche, entsprechend 2,15 Proz. Asche, 10,12 mg CO_2 , 2,00 mg H_2O , entsprechend 45,28 Proz. C, 3,67 Proz. H.
3. 8,043 mg Substanz: 15,35 mg BaSO_4 , entsprechend 26,75 Proz. S (nach Abzug von 2 Proz. Asche).

Überführung der Thiophenmelaninsäure in Thiophenmelanin.

0,35 g trockener, fein gepulverter Thiophenmelaninsäure wurden in locker bedecktem Uhrglase durch 2 Stunden im Wärmeschrank auf 270° erhitzt. Die weitere Verarbeitung geschah in analoger Weise wie bei der Darstellung des Tyrosinmelanin beschrieben. Ausbeute an Thiophenmelanin: 0,2 g entsprechend 57 Proz. der verwendeten Thiophenmelaninsäure.

Schwarzes Pulver mit denselben Eigenschaften wie die bisher dargestellten Melanine.

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz nach mehrwöchiger Trocknung im Exsikkator zuerst über Schwefelsäure, dann über Chlorcalcium noch durch 2 Stunden im Wärmeschrank bei 120°, zudem unmittelbar vor der Analyse jede Einwage gesondert im Vakuum über Schwefelsäure bei 2 mm Druck getrocknet.

1. 4,727 mg Substanz: 0,035 mg Asche, entsprechend 0,74 Proz. Asche, 9,12 mg CO_2 , 1,08 mg H_2O , entsprechend 53,01 Proz. C, 2,58 Proz. H.
2. 5,248 mg Substanz: 0,043 mg Asche, entsprechend 0,82 Proz. Asche, 10,15 mg CO_2 , 1,13 mg H_2O , entsprechend 53,18 Proz. C, 2,43 Proz. H.
3. 5,743 mg Substanz: 0,046 mg Asche, entsprechend 0,80 Proz. Asche, 5,697 mg aschefreie Substanz: 11,21 mg BaSO_4 , entsprechend 27,02 Proz. S

Zur Chemonastie von *Drosera rotundifolia*. I.

Von

Walter Mevius.

(Aus dem botanischen Institut der Universität Münster i. W.)

(Eingegangen am 12. April 1924.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Charles Darwin hat zum erstenmal die Einwirkung der verschiedensten organischen und anorganischen Salze auf die Tentakeln von *Drosera rotundifolia* untersucht. Er stellte fest, daß die Natriumsalze sämtlich Einbiegung verursachten im Gegensatz zu den Kaliumsalzen, die keinen Reiz ausübten.

In kleinem Maße sind dann später diese Versuche von *Schmid* und *Ruschmann* nachgeprüft worden. Ersterer hat verschiedene Phosphate untersucht, und er konnte feststellen, daß das einbasische Kaliumphosphat ohne Einwirkung war. *Ruschmann* prüfte den Einfluß von K_2HPO_4 und K_3PO_4 auf die Tentakeln von *Drosera*. Er stellte fest, daß K_2HPO_4 in bestimmten Konzentrationen reizte. Das dreibasische Phosphat verhielt sich, außer in Konzentration 1:100, die stark reizte, indifferent. Er hatte somit das erste Kaliumsalz gefunden, das Einkrümmung der Tentakeln von *Drosera rotundifolia* bewirkte.

Da *Darwin* die einzelnen Salze in den meisten Fällen nur in zwei bis drei Konzentrationen auf die Blättchen einwirken ließ, dürfte es keineswegs ausgeschlossen sein, daß es Konzentrationen gibt, in denen auch andere Kaliumsalze bei *Drosera*-Tentakeln eine Reaktion auslösen.

Zunächst habe ich die Einwirkung der Natriumhaloide in den Konzentrationen $n/2$ bis $n/1000$ auf die Tentakeln von *Drosera rotundifolia* untersucht.

Zu den Versuchen wurden abgeschnittene Blättchen von *Drosera rotundifolia* verwandt, die in die Lösung geworfen wurden, wie es schon vorher *Correns* und *Benecke* bei ihren Untersuchungen getan haben. Obwohl diese einfache Methode nicht die Entscheidung darüber gestattet, ob die Salze die Induktionszone beeinflussen oder direkt auf die Reaktionszone einwirken, so hat sie doch den Vorzug, daß gleichzeitig eine große Menge von Parallelversuchen angestellt werden können; denn nur so gelingt es, brauchbare Resultate zu erzielen, da bei *Drosera*-Blättchen die Reizempfindlichkeit eine sehr verschiedenartige ist. Das Material stammte aus

der Nähe von Münster. Große, dort ausgestochene *Drosera*rasen wurden auf dem Moorbeet des botanischen Gartens weitergezüchtet. Zu den Untersuchungen wurden ausgewaschene, aber noch jugendliche Blätter verwandt. Das Wasser, welches zur Herstellung der Lösungen benutzt wurde, war zweimal überdestilliert worden. Die zweite Destillation fand in einem geschlossenen Quarzapparat statt. Die Versuche wurden in Bechergläsern von Jenaer Glas angestellt. Es wurden jedesmal 100 ccm Lösung verwandt. Die benutzten Chemikalien stammten von *Merck*. Die Untersuchungen sind in den Sommern 1921, 1922 und 1923 angestellt worden; denn es stand nur während einer kurzen Jahreszeit eine genügende Anzahl geeigneter Blätter zur Verfügung. Es liegt also eine „Saisonarbeit“ vor, und obwohl die Versuche noch keineswegs zum Abschluß gelangt sind, so möchte ich dennoch den ersten Teil meiner Untersuchungen mitteilen.

Als erstes Salz wurde das schon von *Darwin* untersuchte NaCl in verschiedenen Konzentrationen auf *Drosera*blättchen zur Einwirkung gebracht.

Es wurden sechs Reihen von je zwölf Lösungen, welche die Konzentrationen $n/2$ bis $n/1000$ umfaßten, angesetzt. Für jede Reihe wurden zwölfmal fünf Blättchen verwandt. Die Temperatur, die an den verschiedenen Tagen herrschte, schwankte zwischen 16,5 und 24° C. Waren die Blätter längere Zeit Regen ausgesetzt gewesen, so war die Zahl der nicht reagierenden Blättchen größer als bei sonnigem Wetter.

Die folgende Tabelle gibt die Ergebnisse der sechs Versuchsreihen wieder. Es bedeuten: 0 keine Reaktion, + Spur, ++ deutlich, +++ gut, ++++ stark.

Es läßt sich also folgendes aus der Zusammenstellung entnehmen: In den schwachen Konzentrationen reagieren die Tentakeln zuerst. Da sich ein großer Teil der Blättchen indifferent in diesen Lösungen verhält und die reagierenden eine ganz verschieden starke Krümmung zeigen, muß die Reizstimmung eines Blattes für sein Verhalten maßgebend sein. Allmählich tritt auch Krümmung in den Lösungen von stärkerer Konzentration bis einschließlich $n/4$ ein. Die Zahl der Blätter, die nicht reagieren, wird immer kleiner. In der Konzentration $n/4$ werden sogar sämtliche 30 Blättchen zu starker Tentakeleinkrümmung gezwungen, auch ältere Exemplare reagieren noch in dieser Lösung. Im Laufe von 24 Stunden geht die Krümmung in den Konzentrationen $n/1000$ bis einschließlich $n/40$ wieder vollständig zurück. In der Lösung $n/20$ sind es nur 26 von 30 Blättchen, die ihre Tentakeln wieder ausstrecken. In den Lösungen $n/4$ bis $n/10$ findet Rückkehr in die Normal-lage selbst nach Überführung in Aqua destillata nicht mehr statt. Man kann wohl annehmen, daß in den starken Konzentrationen der Reizung eine Schädigung parallel läuft, die eine Rückkehr in die Normal-lage verhindert. In der Konzentration $n/2$ erfolgt die Schädigung so schnell, daß eine Einkrümmung überhaupt unterbleibt.

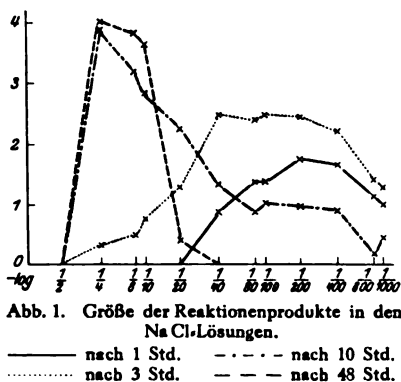
Um ein übersichtliches Bild von der Reizwirkung des Natriumchlorids zu erhalten, wurde noch folgende Zusammenstellung ausgeführt. Die

Konzentration	Reaktion nach					
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	10 Std.	24 Std.	48 Std.
n/2	30—0	30—0	30—0	30—0	30—0	30—0
n/4	30—0	24—0 3+ 3++	11—0	geschädigt 3++++	tot 30++++	tot 30++++
			2+	27+++++		
			5++			
			9+++			
n/8	30—0	20—0 7+ 1++ 2+++	7—0	4—0	3++	3++
			7+	2++	4+++	27++++
			3++	4+++	23++++	
			11+++	20++++		
n/10	30—0	13—0 11+ 6+++	2++++	9—0	4—0	2—0
			9—0	5—0	4—0	3+++
			12++	4++	5+++	3+++
			9+++	7+++	21++++	25++++
n/20	30—0	11—0 10+ 6+++ 3++++	8—0	8—0	17—0	26—0
			4+	1+	3+	1+
			5++	4++	6++	2+++
			9+++	10+++	3+++	1++++
n/40	18—0 5+ 6+++ 1++++	3—0 3+ 5+ 13+++ 6++++	7—0	10—0	26—0	30—0
			5+	11+	3+	
			8++	3++	1+++	
			2+++	2+++		
n/80	9—0 11+ 2++ 6+++ 2++++	9+ 6++ 9+++ 6+++	8++++	4++++		
			14—0	18—0	25—0	30—0
			5+	5+	4+	
			4++	2++	1+++	
n/100	15—0 3+ 2++ 7+++ 3++++	3—0 4+ 7+ 6+++ 10++++	5+++	3+++		
			2+++	2+++		
			7++++	5++++		
			9—0	17—0	30—0	30—0
n/200	10—0 5+ 3++ 6+++ 6++++	5—0 5+ 1++ 9+++ 10++++	2+	2+		
			2++	7++		
			8+++	3+++		
			9++++	1++++		
n/400	13—0 2+ 2++ 9+++ 4++++	7—0 5+ 10+++ 8+++	9—0	17—0	30—0	30—0
			4+	6+		
			10+++	3++		
			7++++	4++++		
n/800	15—0 5+ 2++ 7+++ 1++++	13—0 5+ 3++ 4+++ 5+++	20—0	27—0	30—0	30—0
			2+	1+		
			2++	2++		
			2+++	4++++		
n/1000	15—0 7+ 1++ 7+++	15—0 5+ 1++ 4+++ 5++++	19—0	23—0	30—0	30—0
			3+	1+		
			1++	5++		
			6+++	1+++		

Zahl der spurweise reagierenden Blätter (+) wurde mit 1, der schwach reagierenden (++) mit 2, der gut reagierenden (+++) mit 3, der stark reagierenden (++++) mit 4 multipliziert. Die sich für jede Konzentration ergebenden Produkte wurden sodann addiert und durch die Zahl der Blättchen, die sich in der Lösung von gleicher Konzentration befanden, dividiert. Die Werte, die sich sodann ergaben und die ich Reaktionsprodukte nennen will, sind aus folgender Zusammenstellung zu ersehen:

Verflossene Zeit Std	Konzentration											
	n/1000	n/800	n/400	n/200	n/100	n/80	n/40	n/20	n/10	n/8	n/4	n/2
1	1,0	1,13	1,63	1,77	1,33	1,37	0,9	0	0	0	0	0
3	1,3	1,43	2,23	2,47	2,53	2,4	2,53	1,33	0,77	0,5	0,3	0
6	0,9	0,93	2,7	2,2	1,7	1,2	1,77	1,77	1,7	1,8	1,7	0
10	0,47	0,17	0,93	0,97	1	0,87	1,3	2,23	2,83	3,2	3,9	0
24	0	0	0	0	0	0,23	0,2	1,1	3,3	3,7	4,0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0,37	3,63	3,8	4,0	0

Ein Bild der Größe der Reaktionsprodukte, die man zu bestimmten Zeiten in den verschiedenen starken Lösungen beobachtet, erhält man auch, wenn man in einem Koordinatensystem die Reaktionsprodukte als Ordinaten und die negativen Logarithmen der Konzentrationen als Abszissen einträgt. In Abb. 1 sind für vier verschiedene Zeiten die sich ergebenden Kurven eingezeichnet.



In einem besonderen Versuche wurde noch einmal das Verhalten von *Drosera*-blättchen in den NaCl-Konzentrationen von $n/4$ bis $n/12$ untersucht. Nach 20 Stunden war der Zustand folgender:

Konzentration				
n/4	n/6	n/8	n/10	n/12
12—(++++)	12—(++++)	12—(++++)	2—(++) 10—(++++)	2—(++) 10—(++++)

Ferner wurden solche Blättchen, die sich in den schwachen Konzentrationen nicht gekrümmt hatten, und solche, die in denselben Konzentrationen ihre Tentakeln gekrümmt und wieder ausgestreckt hatten, in Lösungen von den Konzentrationen $n/4$ bis $n/10$ getan. Es zeigte sich, daß bis zum Eintreten der Reaktion ein größerer Zeitraum erforderlich war und sämtliche Blättchen zur Einkrümmung ihrer Tentakeln gezwungen wurden.

Mit NaBr und NaJ wurden die gleichen Versuche angestellt. Es ergab sich, daß der Verlauf der Reaktionen in diesen Salzlösungen derselbe war wie in den NaCl-Lösungen. Die nach bestimmten Zeiten

erreichten Maxima der Reaktionsprodukte waren allerdings meistens in den NaBr- und NaJ-Lösungen größer als in den Chloridlösungen.

Verflossene Zeit Std.	Reaktionsprodukte		
	NaCl n/4	NaBr n/4	NaJ n/4
1	1,77	2,5	2,0
3	2,53	3,2	3,2
6	2,7	3,1	3,4
24	4	4	4

Nach 48 Stunden ergaben sich für die drei Salze folgende Reaktionsprodukte:

	Konzentration				
	n/4	n/8	n/10	n/20	n/40
NaCl . .	4,0	3,8	3,63	0,37	0
NaBr . .	4,0	4,0	4,0	0	0
NaJ . .	4,0	4,0	4,0	3,8	0

In den nächsten Versuchsreihen wurde das Verhalten von Drosereantakeln in NaNO_3 -Lösungen untersucht. Dieses Salz wurde in denselben Konzentrationen verwandt wie die Natriumhaloidsalze. Leider aber konnten die Versuche nur 24 Stunden beobachtet werden.

Es ergaben sich folgende Resultate: Auch in den NaNO_3 -Lösungen erfolgt Einkrümmung der Tentakeln zuerst in den schwächeren Konzentrationen und erst später in den stärkeren. Die Konzentration n/4, die bei den anderen Natriumsalzen stark reizt, ruft hier keine Tentakelkrümmung hervor. Es muß in dieser Lösung die Schädigung so schnell eintreten, daß eine Bewegung der Tentakeln nicht mehr erfolgen kann. Die Reaktion erfolgt schneller und intensiver, und die Einkrümmung bleibt in den schwächeren Konzentrationen länger bestehen als in den gleichen der Natriumhaloide. Da leider die Versuche sich nicht über 48 Stunden erstrecken, kann man nicht entscheiden, ob dauernde Einkrümmung auch in den Konzentrationen über n/20 erfolgt. *Darwin* hatte beobachtet, daß in einer n/35 Lösung sich erst nach 4 Tagen ein Teil der Blätter ausgebreitet hatte.

Über die Größe der Reaktionsprodukte gibt die folgende Zusammenstellung Auskunft.

Verflossene Zeit Std.	Konzentration											
	n/1000	n/800	n/400	n/200	n/100	n/80	n/40	n/20	n/10	n/8	n/4	n/2
1	0,6	0,83	1,17	2,67	2,67	2,0	2,67	1,83	0,33	0,17	0	0
3	0,6	0,83	1,67	3,33	3,33	3,33	2,83	2,83	1,83	0,83	0	0
6	0,6	1,0	1,83	3,0	3,67	3,33	3,33	4	4	3,67	0	0
8	0,3	0,83	1,67	3,0	3,67	3,33	3,33	4	4	3,83	0	0
10	0	0,67	1,17	2,5	3,67	3,5	3,33	4	4	3,83	0	0
24	0	0	0	2,0	3,67	3,5	3,33	4	4	4	0	0

Aus dieser Zusammenstellung geht deutlich hervor, daß schon nach einer Stunde in fast sämtlichen Konzentrationen die Blättchen reagiert haben, und daß das Maximum der Reaktionenprodukte von allen bisher untersuchten Salzen den größten Wert erreicht hat.

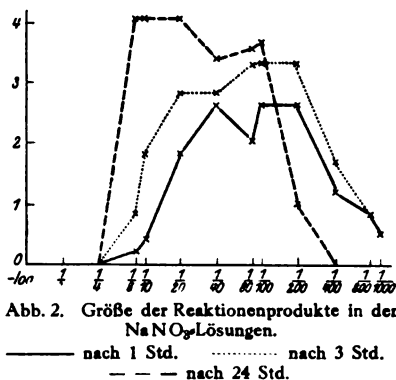
Die sich nach 1, 3, 24 Stunden ergebenden Reaktionenprodukte sind in der Abb. 2 graphisch dargestellt worden.

Als letztes Natriumsalz wurde sodann Na_2SO_4 in den Konzentrationen $n/3$ bis $n/1000$ untersucht. Es wurden zwei Reihen mit siebenmal 12 Blättchen angesetzt.

Folgende Beobachtungen konnten gemacht werden: Der Verlauf ist auch hier derselbe wie bei allen anderen Natriumsalzen, nur ist die Schädigung schwächer als bei den übrigen. Die Blättchen in der Lösung $n/3$ reagieren zum Teil stark. Rückkehr in die Normallage erfolgt hier sogar in der Konzentration $n/10$.

Meine Beobachtungen, daß in den schwächeren Konzentrationen $n/80$ bis $n/1000$ keine Reizung erfolgt, stehen im Gegensatz zu den *Darwin*-schen Beobachtungen. Die Lösung $n/60$ hat bei ihm teilweise Reizung bewirkt, die Lösung $n/120$ reizte sogar alle drei benutzten Blättchen stark. Vielleicht hat *Darwin* in diesem Falle keine chemisch reinen Reagenzien benutzt; denn bei einem Teil seiner benutzten Salze gibt er ausdrücklich „rein“ an. Bei Na_2SO_4 fehlt diese Angabe aber.

Die Größe der Reaktionenprodukte gibt die folgende Tabelle wieder.



Verflossene Zeit Std.	Konzentration											
	$n/1000$	$n/800$	$n/400$	$n/200$	$n/100$	$n/80$	$n/40$	$n/20$	$n/10$	$n/8$	$n/4$	$n/3$
1	0	0	0	0	0	0	0,21	1,0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0,36	3,64	3,21	3,5	2,57	0,21
6	0	0	0	0	0	0	0	4	3,43	3,64	3,36	0,71
10	0	0	0	0	0	0	0	4	3,57	3,93	3,93	2,22
24	0	0	0	0	0	0	0	1,71	1,58	4	4	2,57
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	2,57

Die sich hieraus ergebenden Kurven sind für 1, 3 und 48 Stunden in dem folgenden Koordinatensystem eingezeichnet worden.

Um einen Vergleich der Na-Salze mit den K-Salzen zu gewinnen, wurden die entsprechenden Kaliumsalze in den gleichen Konzentrationen auf *Drosera* zur Einwirkung gebracht.

Das KCl wurde als erstes benutzt. Es wurden fünf Reihen mit je 12mal fünf Blättchen angesetzt. Die folgende Tabelle gibt die beobachteten Reaktionen wieder.

Kon- zentration	Reaktion nach					
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	10 Std.	24 Std.	48 Std.
n/2	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0
n/4	25—0	23—0 1++	18—0 4++++	25—0 geschädigt 1+ 5++++	25—0 tot 25++++	25—0 tot 25++++
n/8	25—0	21—0 1++++ 2+ 2++	17—0 3++++ 3+ 3++ 2+++	9—0 9—0 6+ 7++ 3+++	1—0 2+ 4++ 16++++ 2++++	13+++ 12++++
n/10	25—0	25—0	25—0	23—0 1+ 1++	11—0 2+ 10++ 2+++	10++ 5+++ 10++++
n/20	24—0 1++	24—0 1+	24—0 1+	25—0	21—0 3++ 1+++	20+ 4+++ 1++++
n/40	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0
n/80	24—0 1++	23—0 1+ 1++	23—0 1+ 1++	25—0	25—0	25—0
n/100	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0
n/200	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0
n/400	24—0 1++	24—0 1++	24—0 1++	25—0	25—0	25—0
n/800	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0
n/1000	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0	25—0

Der Verlauf der Reaktion ist in diesen Lösungen ein ganz anderer als in den Lösungen der Natriumsalze. Die schwachen Konzentrationen

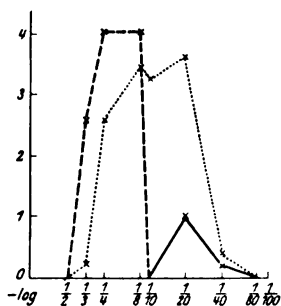


Abb. 3. Größe der Reaktionsprodukte in den Na_2SO_4 -Lösungen.

— nach 1 Std.
 nach 3 Std.
 --- nach 48 Std.

reizen gar nicht; denn die wenigen Ausnahmen dürften sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen sein, daß die betreffenden Blättchen schon vorher leicht gereizt waren. In den starken Konzentrationen ähnelt der Verlauf stark dem in den entsprechenden NaCl -Lösungen. Aber doch läßt sich hier ein erheblicher Unterschied feststellen. Bei den Na -Salzen tritt Krümmung zunächst in der Konzentration n/20 ein und erfolgt erst später auch in den stärkeren Lösungen bis einschließlich n/4. Die KCl -Konzentrationen verhalten sich gerade umgekehrt. Die Reaktion läuft von n/4 zu n/20. In der letzten Lösung tritt Reizung erst nach 24 Std. ein.

Darwin hat Droserablättchen in zwei Lösungen von KCl untersucht, 2,4 g im $1\text{ H}_2\text{O}$ und 1,2 g im $1\text{ H}_2\text{O}$. Diese würden einer Konzentration

von $n/30$ und $n/60$ entsprechen. In beiden Fällen trat keine Reizung ein. Es stimmt dies mit meinen Beobachtungen überein.

Ein Bild der Größe der Reaktionenprodukte zu bestimmten Zeiten in den verschiedenen starken Lösungen gibt die folgende Zusammenstellung.

Verflossene Zeit Std.	Konzentration											
	$n/1000$	$n/800$	$n/400$	$n/200$	$n/100$	$n/80$	$n/40$	$n/20$	$n/10$	$n/8$	$n/4$	$n/2$
1	0	0	0,08	0	0	0,08	0	0,08	0	0	0	0
3	0	0	0,08	0	0	0,12	0	0,04	0	0	0,18	0
6	0	0	0,08	0	0	0,12	0	0,04	0	0,6	0,96	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0,16	1,16	3,68	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0,28	1,12	2,88	4,0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	1,32	3,0	3,48	4,0	0

Das Reaktionsprodukt in $n/4$ ist dasselbe wie in $n/4$ NaCl. Aber nach den schwächeren Konzentrationen zu fällt es stärker ab als bei den Na-Salzen. Für einige Zeiten sind die Reaktionsprodukte in Abb. 4 wiedergegeben.

Die Kurve für 48 Stunden ähnelt sehr der für NaCl, die den gleichen Zeitpunkt darstellt.

Gleiche Versuche wurden mit KBr und KJ angestellt. Die erhaltenen Resultate gleichen stark denen in den KCl-Lösungen. Nach 48 Stunden ergaben sich folgende Größen der Reaktionsprodukte.

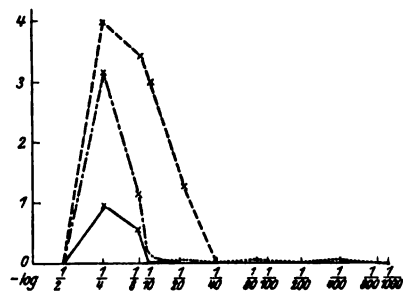


Abb. 4. Größe der Reaktionsprodukte in den KCl-Lösungen.

..... nach 1 Std. - - - - nach 10 Std.
— nach 6 Std. - - - nach 48 Std.

Salz	Konzentrationen				
	$n/4$	$n/8$	$n/10$	$n/20$	$n/40$
KCl	4,0	3,48	3,0	1,32	0
KBr	4,0	3,1	3,2	1,8	0
KJ	4,0	4,0	3,2	2,6	0

Als nächstes Kaliumsalz wurde sodann KNO_3 untersucht. Da die Ergebnisse ganz den Angaben *Darwins*, der keine Reizung erzielte, zuwiderliefen, wurden vier Reihen mit je viermal 12 Blättchen angesetzt. Die Ergebnisse gehen aus der folgenden Zusammenstellung hervor.

Konzentration	Reaktion nach					
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	8 Std.	10 Std.	24 Std.
n/2	16—0	16—0	16—0	16—0	16—0 geschädigt	16—0 tot
n/4	16—0	16—0	16—0	16—0	16—0	16—0 geschädigt
n/8	16—0	13—0 2+ 1++	4—0 9+ 2++ 1+++	4—0 9+ 2++ 1+++	3—0 8+ 3++ 2+++	3—0 3+ 5++ 5+++
n/10	16—0	13—0 2+ 1++	8—0 5+ 2++ 1+++	6—0 5+ 4++ 1+++	5—0 3+ 5++ 2+++	1—0 3+ 3++ 6+++
n/20	16—0	14—0 1+ 1++	10—0 3+ 3++	10—0 1+ 5++	9—0 6++ 1+++	7—0 1++ 2+++ 6++++
n/40	16—0	16—0	16—0	16—0	15—0 1+	4—0 1+ 1++ 7+++ 3++++
n/80	16—0	16—0	16—0	16—0	14—0 2+	1—0 2+ 3++ 5+++ 5++++
n/100	16—0	16—0	16—0	16—0	16—0	1—0 5+ 1++ 7+++ 2++++
n/200	16—0	16—0	16—0	16—0	16—0	5—0 2+ 1++ 5+++ 3++++
n/100—1000	3. 16—0	3. 16—0	3. 16—0	3. 16—0	3. 16—0	3. 16—0

Es gibt also auch Konzentrationen, bei denen KNO_3 reizt. Der Verlauf der Reaktion ist auch hier der für die Kaliumsalze charakteristische: Zuerst Einkrümmung in den stärkeren Konzentrationen und erst später in den schwächeren. Die Konzentration n/4 verhält

Verflossene Zeit Std.	Konzentration											
	n/1000	n/800	n/400	n/200	n/100	n/80	n/40	n/20	n/10	n/8	n/4	n/2
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0,19	0,19	0,25	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0,56	0,75	1	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0,7	1	1	0	0
10	0	0	0	0	0	0,12	0,06	0,94	1,44	1,25	0	0
24	0	0	0	1,94	2,25	2,7	2,25	2	2,44	1,75	0	0

sich wie die gleiche Konzentration des NaNO_3 . Da Einkrümmung von $n/8$ bis $n/200$ eintritt, so reizt Kaliumnitrat von allen bisher untersuchten Kaliumsalzen in dem größten Bereich. Die Größe der Reaktionenprodukte gibt die vorstehende untere Tabelle wieder.

Für drei Zeitpunkte (3, 6, 24 Stunden) sind die sich ergebenden Reaktionenprodukte in dem folgenden Koordinatensystem niedergelegt worden.

Als letztes Kaliumsalz wurde sodann K_2SO_4 der Untersuchung unterzogen. Es wurden zwei Reihen mit je siebenmal 12 Blättchen angesetzt. Die Ergebnisse gibt die folgende Zusammenstellung wieder.

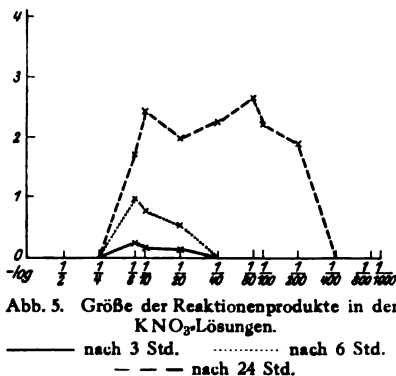


Abb. 5. Größe der Reaktionenprodukte in den KNO_3 -Lösungen.
— nach 3 Std. nach 6 Std.
— — — nach 24 Std.

Konzentration	Reaktion nach					
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	10 Std.	24 Std.	48 Std.
n/3	14—0	12—0 1+ 1+++	12—0 1+ 1++++	7—0 3+ 2+++ 2++++	4—0 1+ 7+++ 2++++	2—0 9+++ 3++++
n/4	14—0	9—0 5+++	9—0 1+++ 4++++	5—0 2+ 2+++ 5++++	2—0 2+ 4+++ 6++++	1—0 4+++ 9++++
n/8	14—0	13—0 1+++	13—0 1+++	9—0 2+++ 2++++ 1++++	1—0 2+ 3+++ 7+++ 1++++	7—0 5++ 2++++
n/10—1000	9. 14—0	9. 14—0	9. 14—0	9. 14—0	9. 14—0	9. 14—0

Schädigung und Reizung sind bei diesem Kaliumsalz am geringsten von allen untersuchten Kaliumverbindungen. Auch hier wirkt die Konzentration $n/4$ schneller und stärker als die schwächeren. In Konzentration $n/3$ wirkt höchst wahrscheinlich eine eintretende Schädigung der Reaktion entgegen. In der Konzentration $n/8$ tritt sogar teilweise Rückkrümmung der gereizten Tentakeln ein.

Die Größe der Reaktionenprodukte ist aus der folgenden Zusammenstellung zu ersehen.

Verflossene Zeit Std.	Konzentration											
	n 1000	n 800	n 400	n 200	n 100	n 80	n 40	n 20	n 10	n 8	n 4	n 3
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,21	1,97	0,28
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,21	1,36	0,36
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,0	1,85	0,93
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,57	2,71	2,14
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,14	3,43	2,79

Für 3 und 48 Stunden sind diese Werte graphisch dargestellt worden.

Fassen wir die gewonnenen Resultate noch einmal kurz zusammen, so ergibt sich folgendes: Die drei Natriumhaloide verhalten sich ganz ähnlich bei der Reizung von Droseratentakeln. Zuerst reagieren nur die Blättchen in den schwächeren Lösungen, erst langsam tritt Einkrümmung der Tentakeln in den starken Konzentrationen bis ein-

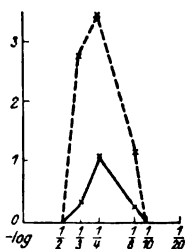


Abb. 6. Größe der Reaktionsprodukte in den K_2SO_4 -Lösungen.

— nach 3 Std.
- - - nach 48 Std.

schließlich $n/4$ ein. Innerhalb 48 Stunden sind in den Lösungen $n/40$ bis $n/1000$ die Tentakeln in ihre alte Lage zurückgekehrt. Gegenüber der Reizung in den schwachen Lösungen ist die Empfindlichkeit der Droserablättchen eine ganz verschiedenartige. In erheblichem Maße kommen sich indifferent verhaltende Blätter vor, und bei den reagierenden Blättern ist die Stärke der Reaktion eine ganz verschiedene. In den starken Konzentrationen hingegen reagieren die Blättchen sehr viel einheitlicher. Ausfälle kommen selten vor. In den Lösungen $n/4$ fehlen dieselben vollständig. Aber eine Rückkehr der Tentakeln in die Normallage läßt sich in den starken Lösungen nicht beobachten. Selbst nach Überführung in Aqua destillata unterbleibt dieselbe. Es muß hier der Reizung eine Schädigung parallel laufen. In $n/2$ Lösung tritt dieselbe so schnell ein, daß es überhaupt nicht zu einer Einkrümmung kommt. Das Natriumnitrat reizt noch schneller und intensiver als die Haloide. Auch ist die Schädigung eine stärkere. In $n/4$ Lösung erfolgt keine Reaktion. Der Verlauf der Reaktion ist sonst ähnlich dem in den Haloidsalzlösungen.

Das Natriumsulfat bewirkt Einkrümmung nur in den Lösungen $n/40$ bis einschließlich $n/3$. Reaktion erfolgt auch hier zuerst in schwächeren Lösungen und erst später in den stärksten. Der schwächeren Reizwirkung geht auch eine geringere Schädigung parallel.

Bei den Kaliumsalzen treffen wir keine Reizung in den schwachen Konzentrationen. Die Haloide reizen nur in den Konzentrationen $n/4$

bis $n/20$, und zwar nimmt die Größe des Reaktionenproduktes mit abnehmender Konzentration ab. Innerhalb 48 Stunden wurde niemals Rückkehr in die Normallage beobachtet.

Das Kaliumnitrat bewirkt von allen K-Salzen Einkrümmung in dem größten Intervall — von $n/8$ bis $n/200$. Allerdings bleiben die nach 24 Stunden erreichten Größen der Reaktionenprodukte hinter den Werten, die man in den Haloidsalzlösungen erhält, zurück. Die Schädigung ist bei diesem Kaliumsalz am größten. Das Kaliumsulfat bewirkt Einkrümmung in dem kleinsten Intervall. Dieser schwächsten Reizwirkung läuft auch die geringste Schädigung parallel. Einen wesentlichen Unterschied weisen aber alle Kaliumsalze hinsichtlich des Eintretens der Reaktion gegenüber den entsprechenden Natriumsalzen auf. Gekrümmt werden zuerst die Tentakeln in den Konzentrationen $n/4$ (für KNO_3 $n/8$), und langsam tritt dann Einkrümmung in den folgenden schwächeren Konzentrationen auf.

Ordnen wir die Natrium- und Kaliumsalze nach dem Grade der Reizwirkung, so erhalten wir die lyotrope Reihe: $\text{NO}_3' > \text{J}', \text{Br}', \text{Cl}' > \text{SO}_4''$.

Die Größe der Schädigung der den stärkeren Konzentrationen ausgesetzten Blätter geht derselben Reihenfolge parallel. Wir treffen hier dieselbe Reihe, wie wir sie für die Ionenhydratation finden, wenn wir Löslichkeitsbeeinflussung (Aussalzversuche) den Bestimmungen zugrunde legen (siehe Zusammenstellung bei *Fricke* und *Höber*).

Nicht mit meinen Versuchen stimmen überein die Reihen, die *Kahho* bei seinen Versuchen erhalten hat, die Giftwirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma festzustellen. Hier rangieren meistens Br' und J' vor NO_3' .

Warum dauert nun in den stärkeren Konzentrationen der Natrium- und Kaliumsalze der Eintritt der Reaktion so sehr lange?

Am 28. August 1922 wurden mehrere Blättchen in $n/4$ NaCl-Lösung geworfen. Sodann wurden die Epidermiszellen der Tentakelstiele untersucht.

Nach 1 Stunde wurde starke Plasmolyse beobachtet

„ 2 Stunden „ deutliche „ „

„ 4 „ „ keine „ „

„ 5 „ „ beginnende Einkrümmung beobachtet.

Für die $n/4$ KCl-Lösung bekommt man ein ganz ähnliches Bild.

Es mußte also erst die Plasmolyse aufgehoben sein, bevor die Krümmung eintreten konnte. Dies kann aber nicht der alleinige Grund für die starke Verzögerung der Einkrümmung sein, denn bei den Kaliumsalzen tritt ja gerade in $n/4$ KCl-Lösung schneller Reaktion ein, als in den schwächeren Lösungen, obwohl hier die Plasmolyse früher aufgehoben wird, falls eine solche überhaupt vorhanden gewesen ist.

Sodann habe ich die osmotischen Werte der Epidermiszellen der Tentakelstielchen untersucht, und zwar 1. von nicht gereizten Blättern, 2. von Blättchen, die in $n/4$ NaCl-Lösung reagiert hatten, 3. von Blättchen, die in $n/200$ NaCl-Lösung reagiert hatten.

CaCl ₂ Konzentration mol.	Gereizte Blätter n/4 NaCl	Gereizte Blätter n/200 NaCl	Ungereizte Blätter
	Grad der Plasmolyse	Grad der Plasmolyse	Grad der Plasmolyse
0,15	—	—	—
0,2	—	—	—
0,25	—	+	+
0,3	—	++	++
0,35	—	+++	+++
0,4	—	+++	+++
0,45	(+)	+++	+++
0,5	+	+++	+++
0,55	++	+++	+++

(+) zweifelhaft, + deutlich, ++ gut, +++ stark.

Es ist also Einkrümmung in starker Lösung mit einer erheblichen Erhöhung des osmotischen Wertes der Epidermiszellen verbunden, nicht dagegen Reaktion in den schwachen Lösungen.

Wie *Åkerman* gezeigt hat, bewirken einige Reizmittel bei *Drosera* eine Steigerung des osmotischen Wertes um etwa 5 Atm., und zwar muß diese Erhöhung von seiten der Pflanze durch Veränderung der Konzentration des Zellsaftes herbeigeführt worden sein. Es ist daher auch wohl denkbar, daß bei Reizung durch starke NaCl-Lösungen gleiche Verhältnisse vorliegen und die Erhöhung des osmotischen Wertes nur zum geringsten Teile durch eingedrungenes Salz bedingt ist. Vielleicht gelingt es durch neue Versuche, die im kommenden Sommer angestellt werden sollen, die hier vorliegenden Verhältnisse aufzuklären.

Der letzte Teil der Untersuchungen befaßt sich mit dem Einfluß von Ba-, Ca- und Sr-Salzlösungen auf die Tentakeln von *Drosera rotundifolia*.

Darwin hat bei seinen Untersuchungen mit Ca-, Ba- und Sr-Salzen keine Einkrümmung der Tentakeln bekommen. *Correns* untersuchte dann später einige Ca-Salze, und er kam zu dem Ergebnis, daß in verschiedenen Ca-Salzen ein Mittel vorliegt, „um wie durch Äther die Droserablätter für (chemische) Reize unempfindlich zu machen“. Er konnte feststellen, daß in Lösungen, die Ca-Salze enthielten, durch Erwärmen bis 51° keine Einkrümmung erzielt wurde und daß Ca(NO₃)₂ in bestimmten Konzentrationen eine Reizung durch Ammoniumcarbonat verhinderte.

Die von mir benutzten Ca-, Ba- und Sr-Chloride bewirkten in Übereinstimmung mit *Darwin* in keiner Konzentration eine Reaktion von Droserablättchen. Sodann wurden Blättchen, die schon eine Stunde lang in einer CaCl₂- bzw. BaCl₂-Lösung waren, von Zimmertemperatur bis auf 51° erwärmt. Es ergaben sich folgende Resultate (s. folg. Tab.):

Wir bekommen also wie *Correns* das Resultat, daß beim Erwärmen außer in Aqua destillata keine Einkrümmung eintritt. Wohl ist dies aber merkwürdigerweise meistens beim Abkühlen der Fall. Hierbei tritt zunächst ein starkes Nachlassen des Turgors ein unter gleichzeitiger Verfärbung des roten Zellsaftes. Die Verfärbung des Zellsaftes

CaCl ₂ Kon- zentration	Reaktionsgrade beim Erwärmen	Reaktionsgrade beim Abkühlen	BaCl ₂ Kon- zentration	Reaktionsgrade beim Erwärmen	Reaktionsgrade beim Abkühlen
n/10	—	3++++ 2+++ 2++ 1—	n/10	—	4++++ 4—
n/15	—	3++++ 2+++ 2+ 1—	n/15	—	5++++ 3—
n/20	—	6++++ 1+ 1—	n/20	—	3++++ 4+++ 1++
n/30	—	8+++	n/30	—	2++++ 5++ 1—
n/40	—	4++++ 2+ 2—	n/40	—	3++++ 3++ 1+ 1—
H ₂ O	8++++		H ₂ O	8++++	

dürfte auf das Eindringen des Salzes zurückzuführen sein. Sehr bald aber haben die Blättchen wieder ihre alte Festigkeit.

Versuche, durch die festgestellt werden sollte, in welcher CaCl₂-Konzentration schon beim Erwärmen Einkrümmung eintritt, zeigten, daß auch hier die Reizempfindlichkeit der Blättchen maßgebend ist. Gesetzmäßigkeiten ergaben sich nicht. In n/80 Lösung traten die ersten Reaktionen ein, aber bis einschließlich n/400 zeigten sich zahlreiche Ausfälle. In der Lösung n/800 reagierten alle Blättchen schon beim Erwärmen.

Auch wurde untersucht, ob nach verschieden langem Verweilen in einer n/20 CaCl₂-Lösung die Blättchen beim Erwärmen oder Abkühlen in ihrem Verhalten besondere Gesetzmäßigkeiten erkennen lassen. Es war dies aber, wie die Zusammenstellung zeigt, nicht der Fall.

Verflossene Zeit Std.	Reizstärke				
	Erwärmung	Abkühlung			
1	—	5++++	1+++	1++	1+
2	—	5++++	3+++		
3	—	5++++	3+		
4	—	5++++	1++	2+	
5	—	1++++	5+++	2++	
6	—	2++++	5+++	1+	
7	—	5++++	1+++	2++	

Wenn sich auch aus allen Versuchen ergab, daß CaCl₂, BaCl₂ und SrCl₂ in bestimmten Konzentrationen verhindern, daß beim Erwärmen der Lösungen auf 51° Einkrümmung der Tentakeln erfolgt, so dürfen wir dies doch nicht als eine Lähmung auffassen, wie sie etwa durch Einwirkung von Äther hervorgerufen wird; denn in den meisten

Fällen tritt nach Abkühlung der Lösungen doch noch Reaktion ein. Wie diese Verzögerung der Reaktion zustande kommt, darüber läßt sich zurzeit noch nichts Bestimmtes aussagen.

Gleiche Beobachtungen ließen sich auch bei Blättchen machen, die sich in einer $n/4$ KCl-Lösung befanden. Ich wollte eigentlich untersuchen, ob sich durch Erwärmen die Einkrümmung von Droseratentakeln in $n/4$ KCl-Lösung beschleunigen läßt.

Sechs Blätter in Aqua destillata krümmten sich beim Erwärmen momentan bei 47° .

Je sechs Blättchen, die 2 bzw. 4 Stunden in $n/4$ KCl-Lösung gewesen waren, krümmten sich weder beim Erwärmen noch beim Abkühlen.

Von sechs Blättchen, die 6 Stunden in der KCl-Lösung waren, krümmte sich keins beim Erwärmen, wohl aber erfolgte starke Einkrümmung nach einstündiger Abkühlung. Ein Verweilen von 8 bzw. 10 Stunden ergab dasselbe Resultat.

Sodann wurden Blättchen genommen, die 12 Stunden lang in der KCl-Lösung gewesen waren und schon beginnende Einkrümmung zeigten. Durch das Erwärmen wurde wohl in diesem Falle eine leichte Beschleunigung der Reaktionen erzielt, aber der Erfolg war doch keineswegs ein so momentaner, wie man ihn beim Erwärmen in Aqua destillata beobachtet. Erst 1 Stunde nach Aufhören der Erwärmung waren alle sechs Blättchen stark gekrümmt. Andere Versuche mit etwas verschiedener Versuchsanstellung führten zu denselben Resultaten. Die langsame Einkrümmung in der KCl-Lösung dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die Pflanzen seit Wochen im Freien einer niedrigen Temperatur ausgesetzt waren. Wärmereiz und Reizung durch eine starke KCl-Lösung lassen sich nicht summieren. Im Gegenteil, es tritt dieselbe Behinderung in der Wirkung des Wärmereizes auf und Krümmung bei der Abkühlung, wie wir sie in CaCl_2 - und BaCl_2 -Lösungen beobachtet haben. Da aber, wie im ersten Teil der Untersuchung gezeigt wurde, KCl keine Lähmung, sondern sogar in bestimmten Konzentrationen starke Reizung hervorruft und gerade die hierfür günstigste Konzentration bei Droserablättchen dieselben Erscheinungen hervorruft, die man in CaCl_2 - und BaCl_2 -Lösungen beobachten kann, dürfte es keineswegs sicher sein, daß Ca- und Ba-Salze auf Droseratentakeln lähmend wie Äther einwirken.

Einen sicheren Beweis für die Unschädlichkeit dieser Salze werden uns die folgenden Untersuchungen bringen.

Werden durch Calciumsalzlösungen die Blättchen gelähmt, so müssen bei Überführung derselben aus diesen Lösungen in starke NaCl-Lösungen, die ja, wie vorher gezeigt, sicher reizen, höchstwahrscheinlich längere Zeiten vergehen, bis Einkrümmung erfolgt, als das bei Blättchen der Fall ist, die sofort in die starken Kochsalzlösungen gebracht werden.

In den ersten Versuchsreihen wurden je sechs Blättchen $1\frac{1}{2}$ Stunden lang in CaCl_2 -, BaCl_2 - und SrCl_2 -Lösungen von der Konzentration $n/4$, $n/6$, $n/8$, $n/10$, $n/12$ gebracht und dann in NaCl-Lösungen von denselben normalen Konzentrationen überführt. Es zeigte sich nun, daß die vorbehandelten Blätter keineswegs eine längere Zeit zur Reaktion brauchten, als die nicht vorbehandelten. Vielleicht wurden sie sogar etwas schneller gekrümmt.

Bei einer zweiten Versuchsreihe wurden die Blättchen (jedesmal sieben) 5 Stunden lang in den Lösungen der Erdalkalien gelassen.

Jetzt trat sogar schon 2 Stunden nach Überführung in die Natriumchloridlösung teilweise Reaktion ein. In einigen Fällen war dieselbe sogar stark. Eine Ausnahme machten nur die $n/4$ Lösungen. Je acht Blättchen, 7 Stunden lang in den Erdalkalienlösungen vorbehandelt, zeigten schon 50 Minuten nach Überführung zum größten Teil starke Krümmungen. Auch hier fielen wieder die Konzentrationen $n/4$ aus.

Noch schneller erfolgte die Reaktion, wenn man 11 Stunden vorbehandelte.

Ähnliche Versuchsreihen, die 1 Jahr später angestellt wurden und dieses deutlich zeigen, seien hier wiedergegeben.

Siebenmal sieben Blättchen wurden 14 Stunden lang in eine $n/4$ Lösung von CaCl_2 gebracht und sodann in NaCl -Lösungen von verschiedener Konzentration überführt. Es ergeben sich nach bestimmten Zeiten folgende Bilder:

Verflossene Zeit	Reaktionsgrade						
	$n/4$	$n/5$	$n/6$	$n/7$	$n/8$	$n/9$	$n/10$
30 Min.	7—0	1+++ 6—0	1++++ 2+++ 3++ 1—	5++++ 2+++	5++++ 2+++	7++++	7++++
1 Std.	1+++ 1+ 5—0	1++++ 3+++ 3—0	5++++ 2+++	7++++	7++++	7++++	7++++
3 „	1+++ 1+ 5—0	1++++ 3+++ 3—0	5++++ 2+++	7++++	7++++	7++++	7++++
20 „	2++++ 4+++ 1—0	7++++	7++++	7++++	7++++	7++++	7++++

Es geht also aus allen diesen Versuchen deutlich hervor, daß durch Vorbehandlung mit CaCl_2 , BaCl_2 und SrCl_2 niemals Lähmung der Droserablättchen hervorgerufen wird. Im Gegenteil, ein stundenlanger Aufenthalt in diesen Salzlösungen bewirkt, daß nach Überführung in starke Natriumchloridlösungen nicht erst nach Stunden, sondern sofort Krümmung der Tentakeln eintritt, die teilweise sogar sehr stark ist.

Wie erklären sich nun die anders lautenden Erklärungen *Correns*? Dieser Forscher hat die Calciumsalze gleichzeitig mit dem reizenden Salz $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ auf Droserablättchen zur Einwirkung gebracht. Höchstwahrscheinlich wurde durch das Ca -Ion das Eindringen des NH_4 -Ions verhindert, so daß keine Reizung erfolgen konnte. Es sind ja Fälle bekannt, daß das Ca -Ion den Protoplasten für andere in der Lösung befindliche Ionen impermeabel macht. (Zusammenstellung bei *Höber*.)

Sodann müssen wir aber nach einer Erklärung suchen, warum längere Vorbehandlung mit CaCl_2 -Lösungen bewirkt, daß starke NaCl -Lösungen ein sofortiges Einkrümmen von Droseratentakeln bewirken.

Bekanntlich mußten die Blättchen, die sofort in die starken Kochsalzlösungen gebracht wurden, zunächst die Plasmolyse überwinden, und erst dann konnte Krümmung der Tentakeln eintreten. Es dürfte nun sehr wahrscheinlich sein, daß diese Steigerung des osmotischen Wertes des Zellsaftes in den starken Lösungen der Erdalkalienechloride schon vor sich geht. Nach Überführung in die Natriumchloridlösung kann dann, sobald geringe Mengen dieses Salzes in die Zellen eingebracht sind, die Krümmung der Tentakeln erfolgen. Auf Grund meiner Versuche dürfte auch die Annahme *Correns*, die Kalkfeindlichkeit der Droseraarten sei auf eine Giftwirkung des Calciums zurückzuführen, hinfällig sein. Ernährungsphysiologische Untersuchungen dürften auch hier ergeben, daß es die alkalische Reaktion des Bodens ist, die das Wachstum dieser Pflanze auf Kalkböden ausschließt, zumal ich beobachten konnte, daß sich in starken Calciumchloridlösungen Droserablättchen bis zu 14 Tagen lebend hielten, was in gleich starken Alkalilösungen keineswegs der Fall war.

Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

1. Die Natriumhaloide zeigen in der Reizung der Droserablättchen ein ganz ähnliches Verhalten.

In schwacher Lösung tritt Einkrümmung der Tentakeln schon nach kurzer Zeit ein. Aber die Blättchen zeigen in diesen Lösungen je nach der Reizstimmung, in der sie sich befinden, ein ganz verschiedenes Verhalten. Erst langsam tritt auch Einkrümmung in den stärkeren Lösungen bis einschließlich $n/4$ ein. Die Reaktion ist aber hier eine sehr viel gleichmäßigere. $n/4$ Lösungen bewirken bei allen untersuchten Blättchen starke Einkrümmung. Nach 24 Stunden haben die Blättchen in den schwächeren Lösungen bis einschließlich $n/40$ wieder ihre Tentakeln ausgestreckt. In der Konzentration $n/4$ bis $n/10$ hingegen unterbleibt dies. Die Einkrümmung in den stärkeren Lösungen ist mit einer erheblichen Steigerung des osmotischen Wertes der Epidermiszellen der Tentakelstiele verbunden. Bei Reaktionen in den schwächeren Lösungen wird dies nicht beobachtet.

2. NaNO_3 -Lösungen bewirken eine stärkere Reizung und eine stärkere Schädigung. In der Lösung $n/4$ erfolgt diese Schädigung so schnell, daß es nicht mehr zu einer Einkrümmung der Tentakeln kommt.

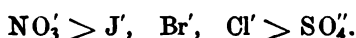
3. Na_2SO_4 -Lösungen bewirken die schwächste Reizung. Nur in den stärkeren Lösungen kommt es zu Tentakelkrümmung.

4. Die Kaliumhaloide wirken auch reizend auf Droserablättchen ein, allerdings nur in den Konzentrationen $n/4$ bis $n/20$. Der Verlauf und die Stärke der Reaktion sind für die drei untersuchten Salze ganz ähnlich. Im Gegensatz zu den Natriumsalzen beginnt die Einkrümmung zuerst in der Konzentration $n/4$ und erfolgt erst später in den schwächeren Konzentrationen.

5. KNO_3 reizt von allen untersuchten Kaliumsalzen in dem größten Intervall. Auch hier beginnt die Einkrümmung zunächst in den stärkeren und erst später in den schwächeren Lösungen.

6. K_2SO_4 reizt am schwächsten und nur in einem sehr kleinen Intervall.

7. Für die K- und Na-Salze läßt sich hinsichtlich der Stärke der Reizung folgende Reihe aufstellen:



8. Die Chloride der Erdalkalien verhindern in bestimmten Konzentrationen ein Einkrümmen der Tentakeln beim Erwärmen auf 51° . (Eine Beobachtung, die schon von *Correns* gemacht wurde.) Beim Abkühlen in den Lösungen zeigt sich aber, daß ein großer Teil der Blättchen seine Tentakeln einschlägt.

9. Die gleiche Beobachtung kann man beim Erwärmen von Blättchen in einer $n/4$ KCl-Lösung machen.

10. Chemischer Reiz, hervorgerufen durch eine $n/4$ KCl-Lösung, und Wärmereiz lassen sich nicht summieren.

11. Vorheriger Aufenthalt von Droserablättchen in einer starken Lösung der Erdalkalien bewirkt nach Überführung in eine NaCl-Lösung, daß die Tentakeln sich nicht erst nach Stunden, sondern sofort krümmen.

12. In starken CaCl_2 -Lösungen halten sich die Droserablättchen 14 Tage und länger am Leben.

Es können also die Salze der Erdalkalien keine Lähmung der Droserablättchen hervorrufen, und die Kalkfeindlichkeit des Sonnentaus kann nicht durch eine Giftigkeit des Ca-Ions bedingt sein.

Literatur.

Å. Åkerman, Bot. Notiser 1917, S. 45. — W. Benecke, Zeitschr. f. Botanik 1, 107, 1909. — C. Correns, Bot.-Zeitung 54, 21, 1896. — Ch. Darwin, Insektenfressende Pflanzen. Stuttgart 1876. — R. Fricke, Zeitschr. f. Elektrochem. 1922, S. 161. — R. Höber, Physikal. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe, 5. Aufl., 1922. — H. Kahho, diese Zeitschr. 117, 87, 1921. 120, 125, 1921; 123, 284, 1921. — G. Ruschmann, Diss. Jena 1913. — G. Schmid, Diss. Jena 1912.

Über insulinartige Stoffe aus Bohnen und deren Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel¹⁾.

Von

M. Eisler und L. Porthelm.

(Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien und aus der biologischen Versuchsanstalt der Akademie der Wissenschaften in Wien, botanische Abteilung.)

(Eingegangen am 12. April 1924.)

In der seit der Entdeckung des Insulins durch die kanadischen Forscher erschienenen Literatur sind auch Mitteilungen enthalten, in denen über insulinartige Stoffe in Pflanzen berichtet wird. Insbesondere *Collip*²⁾ hat solche Substanzen, welche von ihm Glukokinine genannt wurden, aus Hefe, Lattich, Zwiebelkraut und Gras dargestellt und ihre Wirkung beim Kaninchen studiert. Er konnte hierbei eine sofort und eine erst später einsetzende Herabsetzung des Blutzuckers beobachten. *Collip* ist der Ansicht, daß diese Stoffe vom Pankreas-Insulin verschieden sind.

Soviel uns bekannt ist, wurden die Wirkungen dieser pflanzlichen Extrakte bisher nur an Tieren ausprobiert. Wir setzten es uns zur Aufgabe, Untersuchungen über die Beeinflussung des Stoffwechsels der Kohlehydrate in der Pflanze durch solche insulinartige pflanzliche Substanzen durchzuführen. In dieser vorliegenden Mitteilung sind nur orientierende Versuche über dieses Thema enthalten, während die exakte

¹⁾ Ein Auszug dieser Arbeit erscheint unter dem Titel: „Über insulinartige Stoffe aus Bohnen und deren Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel“. Vorläufige Mitteilung von M. Eisler und L. Porthelm (Mitteilungen aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut und aus der biologischen Versuchsanstalt der Akademie der Wissenschaften in Wien) im Akademischen Anzeiger 1924, Nr. 10.

²⁾ *Collip*, Journ. of biol. Chem. 57, 1923; zitiert nach Ref. von Staub. Klinische Wochenschr. Nr. 45—46, 1923; außerdem haben auch Best und Scott, Journ. of metabol. researches 3, 1923, durch Extraktion von Kartoffeln, Reis, Rübenwurzeln, Weizen und Sellerie mit salzsaurem Alkohol eine den Blutzucker herabsetzende Substanz dargestellt.

Ausarbeitung, besonders in quantitativer Hinsicht, erst in Angriff genommen wird.

Wir dachten uns, daß das wirksame Prinzip hauptsächlich in solchen Organen höherer Pflanzen zu finden sein wird, in denen es zu einer Umwandlung des Zuckers in Stärke kommt. Es kamen daher vor allem die Pflanzenteile in Betracht, welche zur Speicherung von Reservestoffen dienen, wie z. B. die Kotyledonen von Samen.

Wir verwendeten zu unseren Versuchen Samen von *Phaseolus multiflorus*, die stets in größerer Menge erhältlich sind. Zerstoßene, trockene Bohnensamen, welche von den abgesprungenen und losgelösten Samenschalenteilchen befreit worden waren, wurden mit 65proz. siedendem Alkohol zu möglichst feinem Brei zerrieben. Das Ganze wurde dann, nachdem wieder einige Testafragmente entfernt worden waren, scharf zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde durch Papierfilter filtriert und dann im Vakuum vom Alkohol befreit. Hierbei trübte sie sich und es traten Flocken auf, welche durch Zentrifugieren entfernt wurden. Versetzt man einen solchen Extrakt mit dem acht- bis zehnfachen Volumen von 95proz. Alkohol, so erhält man einen starken, weißlichen, an der Glaswand fest anhaftenden Niederschlag, der sich durch Zentrifugieren leicht von der alkoholischen Flüssigkeit trennen läßt. Nach Abgießen der alkoholischen Fraktion konnte der Niederschlag leicht in neutraler physiologischer Kochsalzlösung gelöst werden. Die alkoholische Flüssigkeit wurde bei 36° abgedampft, der Rückstand ebenfalls mit physiologischer Kochsalzlösung, in der gleichen Menge wie beim Niederschlag, aufgenommen; man erzielte hierbei eine trübe Emulsion.

Der Kürze halber werden im folgenden der nicht fraktionierte Extrakt als *Gesamtextrakt*, die Alkoholfällung des Gesamtextraktes als *Niederschlag* und die im Alkohol verbleibende, mit Kochsalzlösung aufgenommene Substanz als *alkoholischer Rückstand* bezeichnet.

Die Untersuchungen über die Wirksamkeit unserer Extrakte auf den Blutzuckergehalt von Kaninchen haben folgendes ergeben: Sieben etwa $\frac{1}{2}$ kg schwere Kaninchen, welche 24 Stunden gefastet hatten, wurde 1 ccm des Gesamtextraktes intravenös injiziert. Vor und zwei bis drei Stunden nach der Injektion wurde den Tieren Blut entnommen und der Zuckergehalt nach der *Bangschen* Mikromethode bestimmt. Es konnten Blutzuckersenkungen um 20 bis 45 Proz. festgestellt werden, allerdings sank der Blutzuckergehalt nie unter 0,05 Proz. Krämpfe und sonstige abnormale Erscheinungen wurden nicht beobachtet. Wurden Extraktionen bei 36° C längere Zeit fortgesetzt oder mit Alkohol mit 1 bis 2 Proz. Salzsäuregehalt vorgenommen, so erhielt man keine den Blutzucker herabsetzende Wirkung, wenigstens insofern als keine rasche Reaktion eintrat. Ob nach Tagen eintretende Senkungen des Blut-

zuckerspiegels, wie sie *Collip*¹⁾ für seine pflanzlichen Extrakte beschreibt, zu konstatieren sind, haben wir noch nicht untersucht. Nach der Fraktionierung des Gesamtextraktes wurde der Blutzuckergehalt durch den Niederschlag herabgesetzt, durch den alkoholischen Rückstand wurde er nicht geändert.

Der Mechanismus, durch den im tierischen Körper die Herabsetzung des Blutzuckerspiegels stattfindet, ist, trotz zahlreicher Versuche, noch keineswegs aufgeklärt. Sicher ist, daß das Insulin den Ablauf des Kohlehydratstoffwechsels reguliert. Es war daher naheliegend, den Einfluß unseres Extraktes auf stärkeverzuckernde Fermente zu prüfen.

Zu diesem Zwecke haben wir mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Speichel oder 1proz. Aufschwemmungen von *Takadiastase* mit abgemessenen Mengen des Gesamtextraktes bzw. des Niederschlages oder des alkoholischen Rückstandes versetzt. Als Kontrolle fügten wir denselben Speichel- und *Takadiastase*mengen das entsprechende Volumen Kochsalzlösung hinzu. Zu den verschiedenen Proben gaben wir eine 1proz. Stärkelösung, welche durch kurzes Aufkochen von löslicher Stärke (Kahlbaum-Präparat) in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurde. Nach verschiedenen Zeiten wurden Proben entnommen und mit *Lugolscher* Lösung versetzt. Aus der Farbenreaktion konnte ein Schluß auf den Grad des Stärkeabbaues gezogen werden.

Sowohl der Gesamtextrakt als auch der alkoholische Rückstand hemmen die hydrolysierende Wirkung beider Fermente, dagegen übt der Niederschlag eine deutliche Förderung aus. Erwähnt soll noch werden, daß auch solche Präparate, die beim Tier keine rasch einsetzende Wirkung auf den Blutzuckergehalt hatten, die untersuchten Fermente trotzdem in der beschriebenen Weise beeinflussten.

Die Mitteilung der Protokolle über unsere Versuche und eine detaillierte Besprechung des Kohlehydratstoffwechsels in der Pflanze mit Bezug auf insulinartige Stoffe soll nach Abschluß der bereits oben angekündigten quantitativen Untersuchungen mitgeteilt werden. Wir haben daher an dieser Stelle nur kurz die Ergebnisse der Fermentversuche angeführt.

Nachdem eine Wirkung unserer Extrakte sowohl beim Tier als auch *in vitro* auf stärkeabbauende Fermente festgestellt worden war, versuchten wir, der Frage näher zu treten, ob und wie der Kohlehydratstoffwechsel bei Pflanzen durch diese Substanzen beeinflusst wird. Zu diesem Behufe verwendeten wir *Kotyledonen* von *Phaseolus vulgaris*, deren Samen zum Teil in gequollenem, zum Teil in gekeimtem Zustande

¹⁾ *Collip*, l. c.

herangezogen wurden. Abgewogene Quantitäten von Kotyledonen wurden mit verschiedenen Mengen von physiologischer Kochsalzlösung fein zerrieben und zur Entfernung größerer Partikelchen durch ein Tuch filtriert. Auf diese Weise erhielten wir ganz gleichmäßige Aufschwemmungen, welche sich leicht mit der Pipette aufsaugen ließen. Gleiche Mengen wurden in Fläschchen gefüllt und mit bestimmten Mengen der Extrakte oder der gleichen Quantität physiologischer Kochsalzlösung zur Kontrolle versetzt. Nachdem zur Verhinderung des Bakterienwachstums zu allen Proben Thymol zugesetzt worden war, kamen dieselben in den Brutschrank, wo sie unter öfterem Umschütteln bei 36° gehalten wurden.

Um einen Überblick darüber zu gewinnen, ob überhaupt ein Einfluß der Extrakte konstatierbar ist, haben wir zunächst in solchen Aufschwemmungen zu verschiedenen Zeiten den Zuckergehalt bestimmt. Gleiche Teile der Aufschwemmung wurden scharf zentrifugiert, die überstehende, mehr oder weniger trübe und visköse Flüssigkeit wurde durch Papierfilter geschickt und in den Filtraten der Zuckergehalt durch Reduktion von *Fehlingscher* Lösung untersucht.

In fünf von sechs Versuchen war in den Proben mit Gesamtextrakten weniger Zucker nachweisbar als in den Kontrollen, nur in einem Versuche war das Verhältnis umgekehrt. Dieses Resultat kann natürlich nicht zwingend im Sinne eines stärkeren oder schwächeren Abbaues der Stärke in den betreffenden Proben verwertet werden, da ja der gebildete Zucker in größerem oder geringerem Maße verarbeitet werden kann und dadurch eine Verschleierung des Ergebnisses der Stärkeverzuckerung möglich ist.

Ein klares Bild über den Grad des Stärkeabbaues konnte auf diese Weise erst gewonnen werden, als die Menge der nicht abgebauten Stärke bestimmt wurde. In den folgenden Versuchen, in denen wir die Aufschwemmungen aus trockenen und gequollenen *Phaseolus vulgaris*-Samen, in derselben Weise wie oben beschrieben, hergestellt haben, wurden die nach dem Zentrifugieren resultierenden Sedimente in aliquoten Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Genau abgemessene Mengen dieser Aufschwemmung haben wir mit alkoholischer Jodlösung versetzt. Aus dem Grade der Färbung wurde auf die Menge noch vorhandener Stärke geschlossen. Außerdem haben wir in diesen Versuchen einen qualitativen Nachweis von gebildetem Acetaldehyd durch Zusatz von *Schiffschem* Reagens, dem statt Salzsäure Phosphorsäure zugesetzt war, unternommen. Bei zwei Versuchen wurde mittels der Bichromatmethode von *Nicloux* der gebildete Alkohol bestimmt. Im nachfolgenden teilen wir das Resultat dieser Untersuchung mit:

Die Probe, welche mit dem Niederschlag versetzt war, enthielt weniger Stärke, mehr Acetaldehyd und mehr Alkohol als in den Kontrollen und in den mit dem alkoholischen Rückstand beschickten Aufschwemmungen. Zwischen den beiden letzteren Proben, Kontrolle und alkoholischem Rückstand, konnte ein genügend großer Unterschied nicht wahrgenommen werden.

Die hier kurz mitgeteilten Versuche lassen zwar noch kein genaues Urteil über den quantitativen Ablauf des Stärkeabbaues in der Pflanze zu, immerhin geht aus den gleichartigen Ergebnissen eine Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels durch unsere Extrakte hervor.

Ein weiterer Versuch¹⁾, bei dem der entstandene Acetaldehyd abgefangen wurde, hat eine vermehrte Bildung desselben und somit einen stärkeren Kohlehydratabbau durch den Niederschlag in der Bohnenaufschwemmung nachgewiesen.

Der aus den Bohnenextrakten durch Alkoholfällung erhaltene Niederschlag scheint, ähnlich wie bei den aus *Pankreas* dargestellten Insulinpräparaten, das wirksame Prinzip zu enthalten, insofern er den Bestandteil des Bohnenauszuges darstellt, welcher die Blutzuckersenkung beim Kaninchen, den beschleunigten Abbau der Stärke im pflanzlichen Zellbrei und die Förderung der diastatischen Fermente in vitro bewirkt.

Ähnliche Wirkungen auf den Stärke- bzw. Glykogenabbau kommen auch den Pankreasextrakten zu. In eigenen Versuchen mit dem Zellbrei von *Phaseolus vulgaris* wirkte ein Insulinpräparat in gleichem Sinne wie der aus unseren Extrakten hergestellte Niederschlag. Ferner ist während der Ausführung unserer Versuche eine Mitteilung von *Neuberg, Gottschalk und Strauss*²⁾ erschienen, die über einen verstärkten Abbau des Glykogens im Leberbrei durch Pankreasinsulin berichten. Der Nachweis wurde durch die Konstatierung einer vermehrten Acetaldehydbildung mittels des Abfangverfahrens erbracht.

Wenn wir die Wirkung des Gesamtextraktes berücksichtigen, so vermag dieser beim Kaninchen zwar auch eine Verminderung des Zuckers hervorzurufen, dagegen verursacht er im Gegensatz zum Niederschlag eine Hemmung der fermentativen Tätigkeit. Diese Hemmung ist

¹⁾ Dieser Versuch wurde von Herrn Dr. *Gustav Klein* vom pflanzenphysiologischen Institut der Wiener Universität durchgeführt, der die besondere Freundlichkeit hatte, unsere Bohnenaufschwemmungen (Kontrolle, Aufschwemmung + Niederschlag, Aufschwemmung + Gesamtextrakt) mittels der von ihm ausgearbeiteten Abfangmethode zur Aldehydbestimmung, zu untersuchen. Herrn Dr. *Klein* sprechen wir für die Durchführung dieser Untersuchungen unseren herzlichsten Dank aus.

²⁾ *Neuberg, Gottschalk und Strauss*, Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 45. 1923.

offenbar auf die im Alkohol löslichen Substanzen zurückzuführen, denn wir haben ja gesehen, daß auch der alkoholische Rückstand die Verzuckerung der Stärke wesentlich verzögert.

Daß gewisse Lipoide (Lecithin und Cholesterin) verschiedene Diastasepräparate zu hemmen vermögen, haben *Pincussen* und *Hagihara*¹⁾ gezeigt. Wahrscheinlich wird die fördernde Wirkung bestimmter Substanzen des Extraktes durch diese alkoholischen Stoffe verdeckt.

Bezüglich der Begünstigung der fermentativen Prozesse im Kohlenhydratabbau ist zu berücksichtigen, daß dieser Einfluß den durch Alkohol fällbaren Stoffen des Bohnenextraktes zukommt. Unter ihnen dürfen wir wohl schon nach der Art ihrer Gewinnung eine Reihe von Eiweißabbauprodukten (Aminosäuren und Amine) annehmen. Eine teils fördernde, teils hemmende Wirkung solcher Stoffe auf diastatische Prozesse ist bereits seit längerer Zeit bekannt [*Wohlgemuth*, *Ford* und *Guthrie*, *Sherman* und *Walker*²⁾] und wurde auch durch eine Reihe neuer Arbeiten bestätigt [*Jacoby*, *Haehn* und *Schweigert*, *Orient*³⁾]. Auch Hormonwirkungen können durch Aminosäuren gefördert werden, wie z. B. die des Adrenalins (*Abderhalden* und *Gellhorn*).

Die angeführten Arbeiten mögen als Hinweis darauf genügen, daß den verschiedenen Eiweißabkömmlingen eine wichtige biologische Bedeutung zukommt. Ähnliche Stoffe wie in unseren Bohnenextrakten dürfen wir auch in den aus Pankreas hergestellten Insulinpräparaten annehmen. Enthalten doch auch diese, trotz der zur Reinigung des wirksamen Prinzips vorgenommenen Prozeduren, sicher noch eine Reihe anderer Stoffe.

Ohne hier auf die bereits sehr umfangreiche Insulinliteratur und namentlich auf die experimentellen Arbeiten, die sich mit der Erforschung des Mechanismus der Insulinwirkung beschäftigen, eingehen zu können, muß doch wenigstens die Frage aufgeworfen werden, inwieweit die bereits so mannigfaltigen durch Insulinpräparate beobachteten Wirkungen, die sich bis auf eine Verschiebung der anorganischen Ionen erstreckt, derjenigen Substanz zukommen, die den Blutzucker herabsetzt und das Aceton zum Schwinden bringt, oder ob nicht auch andere in den Insulinpräparaten enthaltene Stoffe (Eiweißabbauprodukte) für verschiedene biologische Effekte verantwortlich zu machen sind⁴⁾.

¹⁾ *Pincussen* und *Hagihara*, diese Zeitschr. **148**, H. 3/4.

²⁾ *Wohlgemuth*, ebendasselbst **9**, 1908; *Ford* und *Guthrie*, Journ. chem. Soc. 1906; *Sherman* und *Walker*, ebendasselbst 1921.

³⁾ *Jacoby*, diese Zeitschr. **140**; *Haehn* und *Schweigert*, ebendasselbst **148**; *Orient*, ebendasselbst **182**, **144**.

⁴⁾ Es sei hier auf die Untersuchungen *Ihjins*, diese Zeitschr. **182**, H. 4/6, hingewiesen, nach denen der Stärke-Auf- und -Abbau mit Salzverschiebungen in der pflanzlichen Zelle zusammenhängt.

Wir möchten in dieser Beziehung auf die früher gemachten Literaturangaben hinweisen, ferner auf unsere eigenen Beobachtungen, daß manche unserer Extrakte, trotz Mangels einer insulinartigen Wirkung beim Kaninchen¹⁾, Fermente zu hemmen oder zu fördern imstande waren. Jedenfalls wäre bei der Unklarheit, die noch über die Art der Insulinwirkung herrscht, zu erwägen, ob diese Wirkung spezifisch an einen bestimmten Körper gebunden ist oder vielleicht einer Reihe von ähnlichen Körpern, darunter einigen in ganz besonderem Maße, zukommt. Diese Überlegung dürfte um so mehr Berechtigung haben, als bereits aus dem verschiedensten Ausgangsmaterial Extrakte mit insulinartiger Wirkung gewonnen werden konnten. Es darf daher wohl angenommen werden, daß überall in der organischen Natur, wo eben ein Kohlehydratstoffwechsel stattfindet, auch Substanzen vorhanden sind, welche diesen regeln.

¹⁾ Allerdings kann uns unter den von uns eingehaltenen Untersuchungsbedingungen (bloß einmalige Prüfung des Blutzuckergehaltes nach ungefähr 3 Stunden) eine Herabsetzung des Blutzuckerspiegels entgangen sein.

Berichtigung.

Zu der Arbeit „Neue Möglichkeiten der Acidimetrie, besonders zur Anwendung auf Eiweißkörper und deren Spaltungsprodukte“ von *Paul Hirsch* in dieser Zeitschr. 147, 433. 1924:

In der zweiten Tabelle auf S. 462 sind die Werte für die zweiten Dissoziationskonstanten von Lysin und Arginin vertauscht. Es muß also

$$1,1 \cdot 10^{-12} \text{ statt } 2,2 \cdot 10^{-12}$$

heißen und umgekehrt.

Autorenverzeichnis.

- Adler, Oskar.* Darstellung schwefelhaltiger Melanine. S. 541.
- Bach, A. und E. Cheraskowa.* Über die Fermentzahlen des Blutes. III. Mitteilung: Die Katalasezahl des Blutes thyreoidektomierter Ziegen. S. 474.
- Bach, A. u. W. Engelhardt.* Über die Spezifität der antiphenolatischen Immunsere. S. 456.
- Bach, A. s. Iwanitzky-Wassilenko.*
— *s. Oparin.*
- Beiser, Arthur s. Pringsheim.*
- Bildsten, Nils V. s. Widmark.*
- Cheraskowa, E. s. Bach.*
- Chowdhury, J. K.* Über Äther von Polysacchariden mit Oxysäuren. S. 76.
- Ehrenthel, O. s. Weis-Ostborn.*
- Eisler, M. und L. Portheim.* Über insulinartige Stoffe aus Bohnen und deren Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel. S. 566.
- Engelhardt, W.* Über die Wirkung der Antiphenolase in adsorbiertem Zustande. S. 463.
— *s. Bach.*
- Erbsen, H. s. Harpuder.*
- Forssman, J.* Zur Chemie der Wassermannreaktion u. d. Antikörper. III. S. 160.
- Frey, Wolfgang v.* Beitrag zur Untersuchung der Serumeiweißkörper. (Methode der Serumgewinnung und Kritik der Rohrschen Albumin-Globulinbestimmung.) S. 53.
- Grassow, Fritz.* Beiträge zur Kenntnis des Wollfettes. S. 61.
- Harpuder, K. und H. Erbsen.* Untersuchungen zur „Löslichkeit der Harnsäure“. I. S. 344.
- Harpuder, Karl.* Untersuchungen zur „Löslichkeit der Harnsäure“. II. S. 355.
- Högl, Franz u. K. Ueberrack.* Über die Verteilung des Blutzuckers auf Körperchen und Plasma. S. 150.
- Iwanitzky-Wassilenko, E. und A. Bach.* Über die Fermentzahlen des Blutes. II. Mitteilung: Schwankungen der Katalase- und Proteasezahlen während 24 Stunden bei Tieren und Menschen. S. 469.
- Jendrassik, L.* Beiträge zu einer Pharmakologie d. Konzentrationsänderungen. I. Mitteilung: Über Wirkungen von Kalium, Calcium und Magnesium am Darm. S. 116.
- Lawrow, Boris A.* Stickstoffumsatz bei einseitiger Ernährung. I. S. 482.
- Lorber, L.* Über das Wesen der antipeptischen Wirkung d. Blutserums. S. 49.
- Lüers, H. und F. Ottensooser.* Hefe-eiweiß als Antigen. S. 130.
- Metzner, P.* Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung. III. Mitteilung: Über die Bindung der wirksamen Farbstoffe in der Zelle. S. 498.
- Mevius, Walter.* Zur Chemonastie von *Drosera rotundifolia*. I. S. 548.
- Nakayama, Kimio.* Untersuchungen über den Einfluß der Salzfreiheit und der Lipoidfreiheit der Nahrung auf den Gaswechsel von Ratten. S. 98.
- Neumann, Alfred.* Die eosinophile Granulasubstanz des Blutes und ihre Darstellung. Untersuchungen über ihre Beschaffenheit und Eigenschaften. I. Mitteilung: Vor-

- bemerkungen, Technik der Darstellung. S. 524.
- Olow, John.* Studien über die Umsetzungsgeschwindigkeit des Äthylalkohols beim Kaninchen. S. 433.
- Oparin, A. und A. Bach.* Über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Fermentbildung in keimenden Pflanzensamen. S. 476.
- Ottensmeyer, F.* s. *Lüers.*
- Portheim, L.* s. *Eisler.*
- Príbyl, E., V. Šuk und J. Zlámal.* Studium der Eiweißkörperkoagulation in Tropfen. V. Mitteilung: Über den Einfluß der Gattung, des Geschlechts und des Alters von Tieren auf die Fällbarkeit des Blutserums. S. 529.
- Pringsheim, Hans und Arthur Beiser.* Über ein Komplement der Amylasen und das Grenzdextrin. III. S. 336.
- Risch, C.* Eine titrimetrische Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. S. 147.
- Rubner, Max.* Die Beziehung des Kolloidzustandes der Gewebe für den Ablauf des Wachstums. S. 187.
- Rubner, Max.* Aus dem Leben des Kaltblüters. I. Teil: Die Fische. S. 222.
- Aus dem Leben des Kaltblüters. II. Teil: Amphibien und Reptilien. S. 288.
- Sabalüschka, Th.* Über die Ernährung von Pflanzen mit Aldehyden. V. S. 370.
- Schlee, H.* Die Konzentration d. Silberions in Lösungen von kolloiden und komplexen Silberpräparaten mit besonderer Berücksichtigung ihrer medizinischen Anwendung. S. 383.
- Šuk, V.* s. *Príbyl.*
- Ueberrack, K.* s. *Högler.*
- Weis-Ostborn, W. u. O. Ehrenteil.* Zur Theorie der Meistagminreaktion (M. R.) beim Carcinom. S. 308.
- Widmark, Erik M. P. und Nils F. Bildsten.* Die Elimination des Methylalkohols u. d. Bedingungen für die Akkumulation desselben. S. 325.
- Yoshiue, Seiitsu.* Über den Stickstoffstoffwechsel b. d. Avitaminose. S. 1.
- Zlámal, J.* s. *Príbyl.*



